

HIDROGELES DE POLI(ACRILAMIDA): EVALUACIÓN DE SU COMPORTAMIENTO EN FLUIDO FISIOLÓGICO SIMULADO (SBF)

María Gabriela De Souza^{1,3}, Yelitza Figueroa de Gil¹, Arnaldo L. Ramírez², José L. Prin¹, Pablo J. Guzmán¹, Blanca Otero³, Carlos Rodríguez¹, Issa Katime⁴ y Blanca Rojas de Gáscue^{1*}

¹⁾ Universidad de Oriente. Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas, IIBCA-UDO. .
Departamento de Ciencia de los Materiales. Cumaná, Estado Sucre. Venezuela.

²⁾ Unidad de Estudios Básicos. Universidad de Oriente. Bolívar, Venezuela.

³⁾ Universidad Politécnica Territorial del Oeste de Sucre “Clodosbaldo Russián”, antiguo Instituto Universitario de Tecnología de Cumaná, Estado Sucre, Venezuela.

⁴⁾ Grupo de Nuevos Materiales y Espectroscopia Supramolecular, Universidad del País Vasco. Bilbao, España
*Correo electrónico: blanca_gascue@yahoo.com

Recibido: Noviembre de 2013; Aceptado: Febrero de 2014

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se estudió la capacidad de absorción de hidrogeles de poli(acrilamida) (PAAm) en solución de *Hanks*, la cual es una solución que por su composición simula los fluidos del cuerpo humano (*Simulated body fluid*, SBF), con la finalidad de evaluar su potencial uso en aplicaciones biomédicas. Los hidrogeles obtenidos fueron sometidos a estudios de absorción en el fluido fisiológico simulado a 37°C (temperatura aproximada del cuerpo humano), determinando el índice de hinchamiento en función del tiempo, por análisis gravimétrico, para la construcción de las isotermas de absorción. A partir de ellas se calcularon los parámetros cinéticos que reflejaron la rapidez de absorción de estos fluidos por parte de la matriz polimérica. Se encontró que los hidrogeles poseen mayor capacidad de absorción en agua que en la solución SBF. La porosidad y composición de los hidrogeles de poli(acrilamida) antes y después de sumergirse en SBF también se caracterizó por microscopía electrónica de barrido y mediante análisis por dispersión de rayos X (MEB-EDX). Los resultados obtenidos indican que estos materiales son bioactivos y pueden ser potencialmente útiles en el área de los implantes o dispositivos biomédicos.

Palabras Claves: Hidrogeles, poli(acrilamida), absorción, fluido fisiológico simulado (SBF), MEB, histogramas

ABSTRACT

This paper studies the absorption capacity of polyacrylamide hydrogels in *Hank's* solution, a balanced salt formulation simulating human body fluids (SBF), in order to evaluate their potential use in biomedical applications. The hydrogels were subjected to absorption studies in both water and simulated physiological fluid at 37°C (approximate temperature of the human body) to determine swelling index versus time by gravimetric analysis and thus obtain the absorption isotherms from which kinetic parameters reflecting the absorption rate of the polymer matrix in these fluids were calculated. It was found that the hydrogels have greater absorption capacity in water than in the SBF solution. The porosity and composition of the hydrogels were also characterized by scanning electron microscopy and energy dispersive X-ray analysis (SEM – EDX) before and after immersion in SBF. Results indicate that these materials are bioactive and potentially useful in the area of implants or biomedical devices.

Key words: Hydrogels, poly (acrylamide), absorption, simulated body fluid (SBF), SEM-EDX

INTRODUCCIÓN

Entre las propiedades que caracterizan a los geles hidratados o hidrogeles está su consistencia blanda y flexible, la cual conserva aunque estos materiales sean insolubles en los medios acuosos. Estas características cobran importancia en el área biomédica porque tienen

paralelismo estructural con los tejidos vivos, debido a su alto contenido de agua y baja tensión interfacial con los fluidos biológicos [1,2]. Por otra parte, se han reportado numerosos trabajos donde se especifica como varía la respuesta de estos materiales en función del medio que los rodea [3-6]. Todo ello ha incrementado el interés sobre la aplicación de los hidrogeles en áreas ligadas a la medicina; así el estudio de geles con propiedades permeables, biodegradables y biocompatibles, es actualmente uno de los temas de investigación con mayor interés [7-9].

Más recientemente, el diseño de las características fisicoquímicas de los hidrogeles, ha seguido la tendencia de otros materiales biomiméticos, que están siendo investigados desde esta corriente originada a partir del estudio de la naturaleza [10,11]. En este sentido, por ejemplo inspirándose en el componente mineral y nanoestructurado del hueso natural (que es en sí un nanocompuesto) se reportan trabajos [12], donde se combinan hidrogeles con fosfato de calcio (CaP).

Cabe destacar, que se requiere que el material que compone el hidrogel tenga una buena compatibilidad frente a los fluidos con los que esté en contacto [13], ya que la implantación de un gel puede conducir a la generación de respuestas del organismo, propias de los mecanismos de defensa habituales. Por ello, los materiales utilizados en aplicaciones biomédicas deben ser diseñados para mantener sus propiedades en el período de tiempo de uso, siendo necesario valorar exhaustivamente todo tipo de interacciones con la introducción de sustancias extrañas en el organismo.

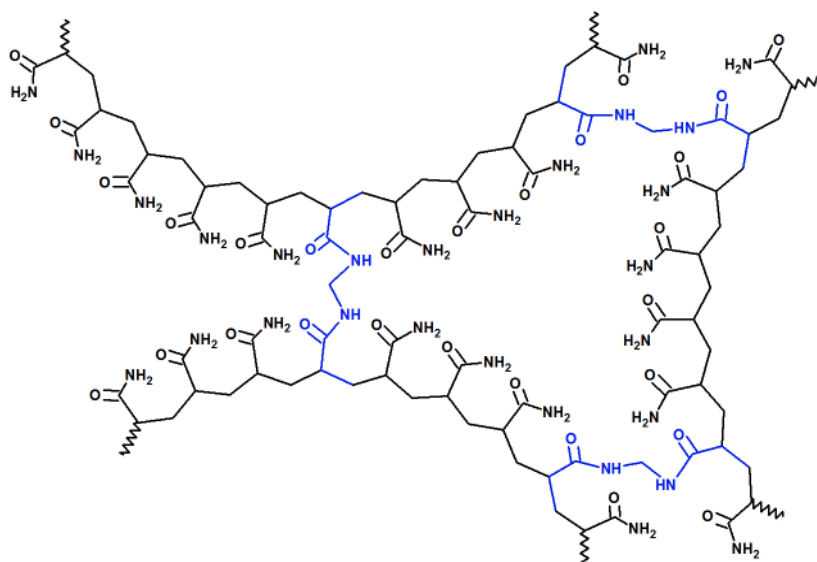


Figura 1. Representación esquemática del hidrogel de poli(acrilamida) [16].

En este sentido se ha reportado que la poli(acrilamida) es atóxica, no carcinógena, no

alergénica, no mutagénica y resistente a la degradación enzimática y microbiológica [13]. Estudios in vitro realizados por *Karadag et al.*, [14] y *Saraydin et al.*, [15], han demostrado que los geles sintetizados a partir de poli(acrilamida), presentan buena biocompatibilidad al no observarse necrosis ni infección del tejido y ser químicamente inerte. El gel de poli(acrilamida) es muy conocido también por ser el medio de soporte para realizar la separación de moléculas por la técnica de electroforesis (Figura 1) [16].

Considerando todos estos aspectos, el objetivo de esta investigación fue estudiar la capacidad absorbente de los hidrogeles de poli(acrilamida) en una solución salina que simula el plasma sanguíneo. En este sentido el fluido fisiológico simulado del cuerpo humano (*Simulated body fluid*, SBF), es una solución que contiene concentraciones de iones análogas a las del plasma sanguíneo humano, su formulación ha sido reportada y optimizada por *Kokubo et al.*, [17, 18], la cual se emplea como medio de cultivo para la conservación celular, por lo que permite predecir la bioactividad de un material, no sólo en los polímeros [19], sino también en aleaciones de titanio [20]. De manera que este trabajo se realizó con la finalidad de evaluar la influencia del fluido del cuerpo sobre las propiedades y potenciales aplicaciones del hidrogel de poli(acrilamida).

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis de los hidrogeles. Para la obtención de los hidrogeles se empleó como monómero la acrilamida (AAm) (M: 71,08 g/mol) del proveedor Promega, como agente entrecruzante N,N'-metilenbisacrilamida (NNMBA) (M: 154,17 g/mol al 98%) y persulfato de amonio (PSA) (M: 228,20 g/mol al 98%) como iniciador, proveídos por Riedel-De Haën. Para ello, se llevó a cabo una polimerización de la acrilamida (AAm) vía radicales libres en solución acuosa a partir de 2,0 g de AAm en un tubo de ensayo con 2,0 mL de agua desionizada, 0,02 g de agente entrecruzante (NNMBA). A continuación se agregaron 0,01 g de iniciador (PSA) en otro tubo de ensayo con 1 L de agua desionizada. Las dos soluciones anteriores, se agregaron a un tercer tubo de síntesis y se sometieron a calentamiento en un baño de aceite a 60°C durante 3 horas, manteniendo una condición inicial de una atmósfera inerte de nitrógeno durante los primeros 20 minutos de la reacción.

Una vez obtenido el hidrogel, este se cortó en forma de discos (con un hilo de nylon) y los mismos se sumergieron en 1 L de agua desionizada haciendo cambios de la misma cada 24 h durante una semana para eliminar residuos del monómero que no reaccionó y alcanzar un pH neutro. Luego de este proceso, se dejaron secar a temperatura ambiente durante una semana más, hasta alcanzar el estado de xerogel [5].

Caracterización de los HG obtenidos por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR). Los HG sintetizados fueron caracterizados en estado seco por espectroscopia infrarroja con transformada de *Fourier* (FT-IR), utilizando un espectrofotómetro FT-IR (*Perkin Elmer*) donde los espectros fueron obtenidos después de 24 barridos con una resolución de 2 cm^{-1} . Para preparar el xerogel se empleó el método de la pastilla de KBr [21].

Determinación de la cinética de absorción del HG en agua desionizada y en solución SBF a la temperatura del cuerpo humano. Para los estudios de absorción, las pastillas de xerogel (0,1 g) fueron sumergidas en 70 mL de agua desionizada a 37°C . El control sobre el proceso de absorción de los hidrogeles, se hizo tomando el incremento de masa de las pastillas a intervalos de tiempo determinados, extrayendo del fluido, secando con papel de filtro y pesando en una balanza analítica (marca ACCULAB). Esto se repitió, hasta que no se obtuvieron variaciones en el incremento másico, lo cual tomó días, indicando que el gel había alcanzado su equilibrio fisicoquímico. De manera análoga, se procedió en el fluido fisiológico simulado del cuerpo humano, SBF.

La absorción de fluido se manifiesta en un incremento visible de su volumen, por lo que se habla de hinchamiento del gel. A partir de las medidas gravimétricas realizadas a diferentes tiempos los porcentajes del grado de hinchamiento, %H, y los contenidos de agua, %W, se calcularon a partir de las siguientes ecuaciones [4]:

$$\%H = \left[\frac{\text{masa húmeda} - \text{masa seca}}{\text{masa seca}} \right] \times 100 \quad (1)$$

$$\%W = \left[\frac{\text{masa húmeda} - \text{masa seca}}{\text{masa húmeda}} \right] \times 100 \quad (2)$$

El fluido fisiológico simulado del cuerpo humano, SBF, se le conoce también como solución de *Hanks*, que consiste en un medio de cultivo usado en la investigación biomédica para la conservación celular. Este fluido fue preparado de acuerdo a la composición mostrada en la Tabla 1.

Caracterización de los HG por microscopía electrónica de barrido (MEB). Se siguieron los procedimientos previamente reportados [22], en donde se reporta que el xerogel se hidrató en el fluido (agua desionizada o SBF) hasta alcanzar el equilibrio fisicoquímico. Una vez alcanzado éste, se llevó a un secador de punto crítico donde se realizaron 4 lavados con CO_2 líquido a una temperatura de -1°C para desplazar el agua por difusión; y, posteriormente, se evaporó el CO_2 y se llevó la muestra a una temperatura de 35°C para colocarla en un portamuestra de aluminio con cinta

conductora de doble adhesión de carbono. Finalmente fue colocada en un evaporador de alto vacío para recubrir la muestra con una fina capa de cromo. Para el análisis de los hidrogeles se empleó un microscopio electrónico de barrido (MEB) marca *Hitachi Field Emission*, Modelo S-800. Además de la morfología de los geles, también se les caracterizó mediante dispersión de rayos X acoplado al microscopio electrónico de barrido (MEB-EDX). Este procedimiento se siguió tanto para el hidrogel que fue sumergido en SBF como en agua desionizada.

Tabla 1. Componentes de la solución de *Hanks* o SBF [17-19]

<i>Reactivo</i>	<i>g/L</i>
NaCl	8,00
KCl	0,40
NaHCO ₃	0,35
Glucosa	1,00
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,19
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,10
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0,06
KH ₂ PO ₄	0,06
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,06

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis del HG de PAAm mediante una polimerización vía radicales libres. El HG de PAAm es fácilmente sintetizado por una polimerización acuosa vía radicales libres del monómero AAm, reacción que se desencadenó por el iniciador utilizado, el persulfato ($S_2O_8^{2-}$) responsable de la formación de especies activas. Las cadenas del polímero que se forman se unen covalentemente cuando en la etapa de propagación adicionan las moléculas bifuncionales de NNMBA, responsable de formar los entrecruzamientos [5], dando lugar así, a un gel químico como el que se muestra en la Figura 1, caracterizado por una estructura en forma de red capaz de expandirse al entrar en contacto con un fluido. Es importante mencionar, la necesaria condición inicial de la reacción en presencia de atmosfera inerte de nitrógeno, para evitar los efectos del oxígeno presente, ya que es un inhibidor de la polimerización.

Caracterización de los hidrogeles obtenidos por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR). Para identificar los grupos funcionales presentes en el HG sintetizado y corroborar la polimerización, se realizó un análisis por espectroscopia IR. Así, pudo comprobarse la completa polimerización de la poli(acrilamida), ya que pudo descartarse la

presencia de monómero sin reaccionar en la región de 990 a 910 cm^{-1} donde hubo ausencia de bandas que demostraran la absorción de la flexión fuera del plano del doble enlace.

En la Figura 2 se presenta el espectro del xerogel de poli (acrilamida) donde pueden apreciarse seis grupos de bandas características: a 2915 y 2830 cm^{-1} una banda de mediana intensidad con dos picos del estiramiento tanto asimétrico como simétrico del CH_2 que se encuentran levemente desplazados a menor frecuencia debido a la reticulación de la red; y, en la región entre 3450-3180 cm^{-1} una banda amplia característica del estiramiento del enlace (N-H) en donde se encuentran solapadas las bandas de amina y amida secundarias que se observan generalmente a 3450 y 3440 cm^{-1} , respectivamente, y a 3350 y 3180 cm^{-1} , los picos característicos de la absorción de amida primaria. En cuanto a las bandas que aparecen a 1.655 cm^{-1} , éstas se atribuyen a vibraciones del grupo C=O en amidas primarias y una banda a 1.560 cm^{-1} atribuida a los modos vibracionales del alargamiento N-H. Y una banda entre 500 cm^{-1} y 800 cm^{-1} que corresponde a la flexión amplia fuera del plano del N-H. La asignación de las principales bandas se resume en la Tabla 2.

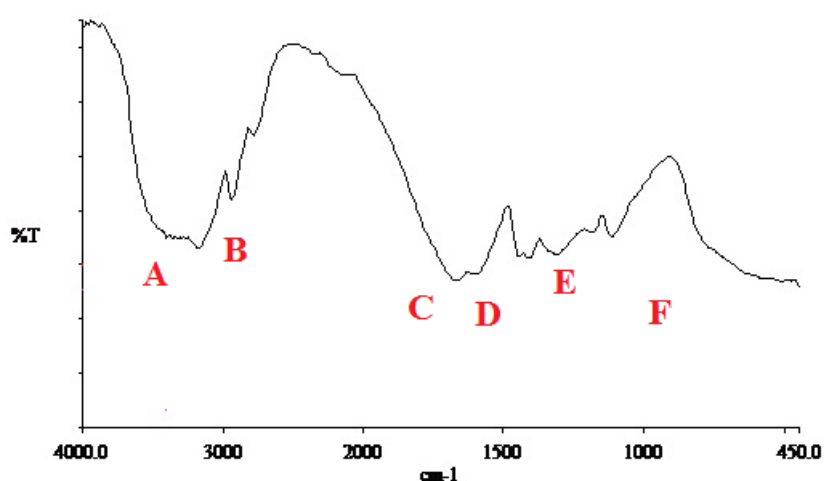


Figura 2. Espectro IR del HG de poli(acrilamida).

Tabla 2. Principales vibraciones de los enlaces del hidrogel de poli(acrilamida).

Banda	Frecuencia (cm^{-1})	Enlace
A	3.450	ν -NH-
	3.350	ν_{as} N-H
	3.180	ν_s N-H
B	2.915	ν_{as} CH_2
	2.830	ν_s CH_2
C	1.655	ν C=O
D	1.560	δ N-H
E	1.280	ν C-N
F	800-500	$\delta_{fuera\ del\ plano}$ N-H

Determinación de la cinética de absorción del hidrogel en agua desionizada y en SBF.

Las isotermas de absorción de los hidrogeles reflejaron las mismas tendencias tanto en agua como en SBF. Ambas curvas de hinchamiento presentaron los aspectos que ya son característicos para los hidrogeles: un comportamiento acelerado de absorción en los primeros instantes de tiempo (primeras 6 horas) en contacto con los fluidos (Figura 3a). Después de 24 horas, empieza a perder velocidad la absorción, debido a que el gel comienza alcanzar su equilibrio fisicoquímico, en donde presenta el máximo contenido de fluido retenido en el interior de su matriz polimérica (figura 3b), a partir del cual se mantiene relativamente constante su masa, ya que llega a su máximo límite de expansión o elasticidad [4].

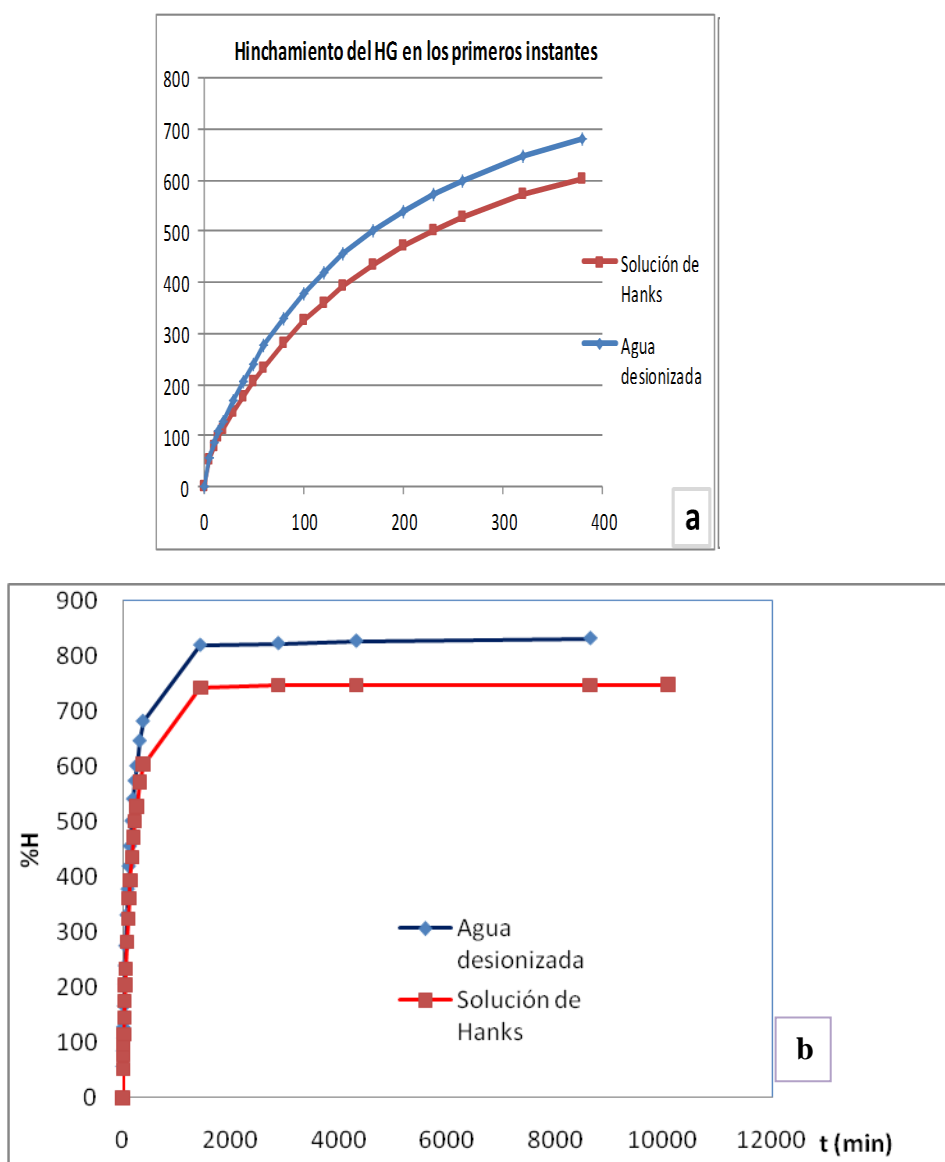


Figura 3. Curvas de hinchamiento del HG de PAAm a 37°C en agua y en SBF: a) En los primeros minutos, b) después de 24 horas

En la Figura 3 se puede apreciar que estos hidrogeles alcanzaron mayores valores de absorción en el agua (un porcentaje de H de 832% y un contenido de agua de 89% en su interior). La afinidad de estos geles con el agua se ha reportado anteriormente como una ventaja para muchos campos de aplicación [5,8,21], ya que su estructura presenta átomos donadores de electrones (N y O) capaces de interactuar con las moléculas de agua formando enlaces por puentes de hidrógeno.

Por su parte, en la solución de *Hanks* se observó una menor capacidad de absorción máxima (748%) y un contenido de solución en su interior, ligeramente menor (88%). Esto, se atribuye a que a pesar que es una solución acuosa, está formada por sales cuyos cationes ocasionan uniones electrostáticas con los electrones no enlazados del oxígeno del grupo carbonilo de la red polimérica, formando complejos e impidiendo en cierta medida la asociación de este par electrónico con las moléculas de agua del medio.

Para determinar los parámetros cinéticos de hinchamiento de los HG en los fluidos de estudio, fue necesario hacer uso de la ecuación establecida por *Schott* [23], para cinéticas de hinchamiento de segundo orden, y útil para períodos de tiempos de hinchamiento largos:

$$\frac{t}{\%W} = \frac{1}{\%W_{\infty}} t + \frac{1}{k \times \%W_{\infty}^2} \quad (3)$$

donde t es el tiempo, $\%W_{\infty}$ el porcentaje de la máxima cantidad de fluido absorbida, y k es la constante cinética de rapidez de absorción de fluido; de manera que, al graficar $t/\%W$ en función de t , se pueden obtener los parámetros $\%W_{\infty}$, y “ k ”, cuyos valores fueron tabulados en la Tabla 3. Los parámetros cinéticos k obtenidos demostraron que los hidrogeles absorben ligeramente más rápido (a $1,05 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) el agua desionizada, que en la solución de *Hanks* (a $0,91 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$).

A partir del registro del incremento de la masa en función del tiempo también fue posible estudiar el tipo de difusión de los distintos fluidos hacia el interior de los hidrogeles, empleando la siguiente ecuación:

$$\frac{m_t}{m_{\infty}} = kt^n \quad (4)$$

donde m_t y m_{∞} son las masas del hidrogel hinchado a un intervalo de tiempo “ t ” y en el equilibrio de máxima absorción, k es la constante característica del sistema, y n es el exponente difusional que rige el modo de transporte del agua

A partir de la representación de $\text{Ln}(m_t/m_{\infty})$ en función del $\text{Ln } t$ se obtuvo una línea recta cuya pendiente proporcionó directamente el valor del exponente n . La Tabla 3, muestra los valores de n obtenidos para los hidrogeles investigados, encontrándose valores que oscilan entre 0,38 y 0,40. Se han reportado que valores de n entre 0,45 y 0,5, que indican un mecanismo de difusión *Fickiano*, sin embargo, valores menores a 0,45, como los que fueron obtenidos en ambos fluidos,

indican que la velocidad de penetración del fluido hacia la matriz polimérica es mucho más baja que la rapidez de relajación de dicha matriz, este mecanismo de difusión se le conoce como comportamiento no *Fickiano* [4,9,24].

A pesar de tratarse de un fenómeno de difusión no *Fickiano*, se llevó a cabo una estimación de los coeficientes de difusión (D) de la entrada del agua a través de los hidrogeles, mediante la aplicación de la ley de *Fick*:

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 4 \sqrt{\frac{D \times t}{\pi \times l^2}} \quad (5)$$

donde *l* es el espesor de la pastilla [4].

A partir de ésta ecuación, se representó m_t/m_∞ en función de $t^{1/2}$, así para las masas obtenidas en los primeros instantes de tiempo se obtuvo una línea recta (donde las fracciones de hinchamiento son menores a 0,6 ya que para valores mayores se pierde la linealidad), de cuya pendiente se obtuvieron los coeficientes de difusión D de los hidrogeles en los fluidos. Se pudo apreciar que la *Ley de Fick* corroboró, los valores de *k* estimados por la ecuación de *Schott*, ya que el parámetro de D resultó mayor en agua, indicando nuevamente que la difusión del fluido, cuando es agua, es ligeramente más rápida que en la solución de *Hanks*.

Tabla 3. Parámetros cinéticos del hinchamiento del HG en agua y en SBF

Fluido	Temperatura °C	W _∞ (%)	K·10 ³ min ⁻¹	n	D·10 ⁶ cm ² /min
Agua desionizada	37	89,3	1,05	0,40	4,17
Solución de <i>Hanks</i>	37	88,5	0,91	0,38	3,63

Caracterización de los HG obtenidos por microscopía electrónica de barrido (MEB).

Con el objeto de caracterizar la porosidad de los hidrogeles obtenidos se analizaron las imágenes obtenidas por MEB (micrografías de la Figura 4) donde pudo apreciarse en ambos casos la red polimérica tridimensional del gel.

La Figura 4a, muestra la micrografía correspondiente al hidrogel de poli(acrilamida) en agua desionizada, donde puede observarse una red con porosidad e interconexión entre poros, una morfología análoga ha sido reportada recientemente en otros hidrogeles derivados de la poliacrilamida [25]. El hidrogel en agua presentó diámetros variables que oscilaron entre 8 y 390 μm. La Figura 4b, muestra el mismo hidrogel en la solución de cuerpo simulado, en donde se percibe una estructura de la red con poros interconectados pero más pequeños, con diámetros que

van desde 3 μm hasta 205 μm , siendo la mayoría de ellos (un 80% de los poros) menores a 54 μm de diámetro, según lo representado en el histograma de la Figura 5. Estos resultados concuerdan con la menor absorción reflejada en las isotermas de la Figura 3.

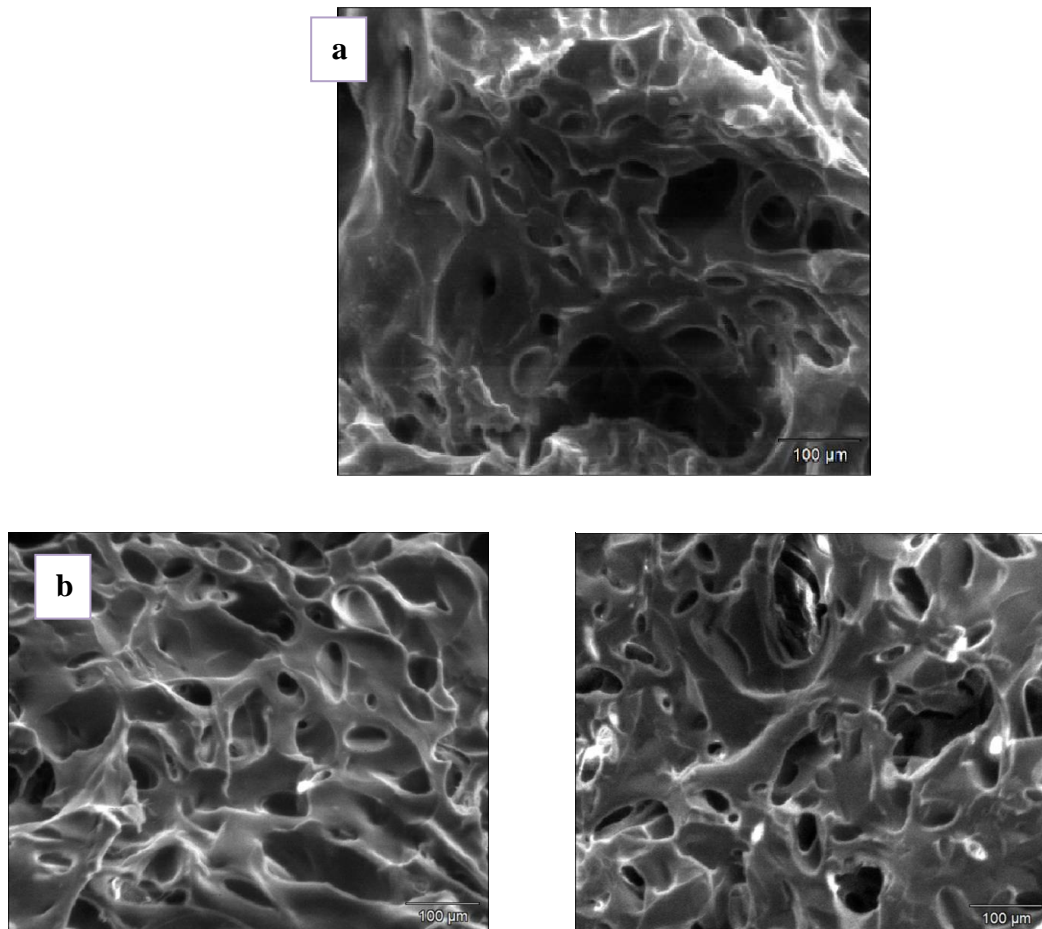


Figura 4. Micrografías del hidrogel de poli(acrilamida): (a) en agua y (b) en fluido fisiológico simulado del cuerpo humano, SBF.

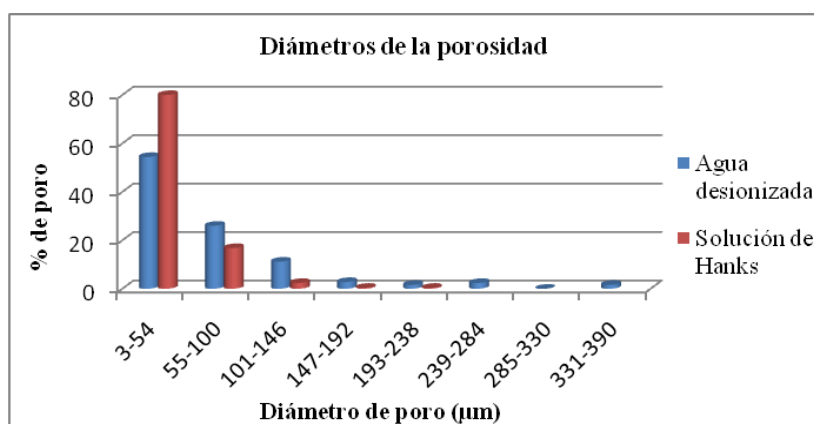


Figura 5. Histograma del tamaño de poros del hidrogel de poli(acrilamida) en agua y en SBF.

Estudio de la interacción de los geles con los iones en la solución salina balanceada de Hanks por análisis de dispersión de rayos X acoplado a un microscopio electrónico de barrido (MEB-EDX). Para determinar con cuales elementos de la solución SBF interactuaba el gel de poli(acrilamida), fue necesario realizar un análisis semicuantitativo de los elementos presentes en los hidrogeles por dispersión de rayos X.

Se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 4, que muestran la absorción de los elementos presentes en el hidrogel que estuvo sumergido en la solución de Hanks. Como puede apreciarse en la Tabla 1 la solución SBF donde fue sumergido el gel, se compone por una mayor concentración de cloruro de sodio, de allí deriva la notoria absorción de cloro y sodio por parte del hidrogel. Los demás componentes como el calcio, magnesio, potasio, fósforo y azufre, se encuentran en cantidades mínimas, cuya presencia en el gel es proporcional a su participación en la solución SBF original. No obstante, al comparar la mayor interacción del gel con el sodio y el cloro, la afinidad de este último se presume que fue favorecida gracias a su mayor electronegatividad y menor tamaño de radio atómico.

Cabe destacar, que el método de análisis MEB-EDX, en las condiciones realizadas, es semicuantitativo, y por ende, permite demostrar las interacciones de los elementos con el gel, mas no proporciona una concentración cuantitativa de los mismos en ella.

Tabla 3. Elementos absorbidos por el gel de poli(acrilamida) después de haber estado sumergido en el fluido fisiológico simulado del cuerpo humano, SBF, determinados por MEB-EDX.

Elementos	(%)
Oxígeno	58,40
Sodio	17,32
Cloro	21,78
Calcio	0,55
Potasio	1,08
Magnesio	0
Fósforo	0,82
Azufre	0,13

Finalmente, se postula que estos iones, son retenidos dentro de la red formando complejos,

gracias a las interacciones iónicas que se generan principalmente por fuerzas electrostáticas entre los cationes y el grupo carbonilo de la amida primaria [26] (Figura 6).

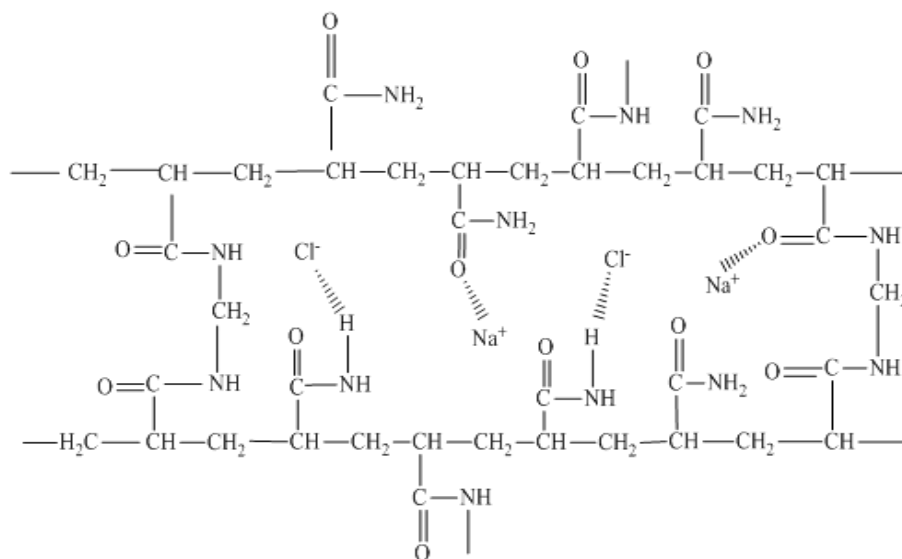


Figura 6. Interacciones iónicas propuestas de la estructura del HG con el fluido fisiológico simulado del cuerpo humano [25].

CONCLUSIONES

El espectro infrarrojo obtenido permitió demostrar la completa polimerización de la poli(acrilamida) y por ende, la ausencia de monómero residual en la matriz polimérica; además, las micrografías obtenidas por MEB demuestran la morfología porosa del hidrogel. Los hidrogeles de poli(acrilamida) alcanzaron un máximo contenido de fluido absorbido mayor en agua que en solución de Hanks; además, en ambos fluidos el hidrogel sigue la cinética de absorción de segundo orden propuesta por Schott, encontrándose que los mismos presentan una rapidez de absorción mayor en agua que en el fluido fisiológico simulado del cuerpo humano.

Agradecimientos. Los autores agradecen el financiamiento recibido del Consejo de Investigación de la UDO a través del Proyecto N°: C1-2-040400-1673-10 y del FONACIT a través del proyecto F-2013000395.

BIBLIOGRAFÍA

1. Peppas NA, Hilt J Z, Khademhosseini A, Langer R. *Adv. Mater.*, **18**, 1345 (2006)
2. Peppas NA, Huang Y, Torres-Lugo M, Ward JH, Zhang J. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2**, 9 (2000)
3. Katime I. *Rev. Iberoam. de Polím.*, **2** (3), 1 (2001).
4. Katime I, Katime O, Katime D “*Los materiales inteligentes de este milenio: Los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones*”. Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco, Bilbao España, 2004
5. Rojas de Gascue B, Ramírez M, Aguilera R, García A, Prin JL, Torres C, Katime I. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia.* **30** (1), 74 (2007)

6. Han S, Hagiwara M, Ishizone T. *Macromolecules*, **36**, 8312 (2003)
7. Lutz JF, Hoth A. *Macromolecules*, **39**, 893 (2006)
8. Benítez JL, Contreras D, Guzmán P, Ramírez A, Prin JL, Rojas de Gáscue B, *Rev. Iberoam. Polím.*, **12**(6), 1 (2011)
9. González N, Prin JL, Benítez J, Ramírez A, García A, Ramirez M, Sabino, Rojas de Gáscue B, *Rev. LatinAm. Metal. Mat.*, **32** (1), 136 (2012)
10. Knippers J, Speck T, *Bioinspiration & Biomimetics*, **7** (1),15 (2012)
11. Rocha Rangel E. *Ciencias*, **98**, 4 (2010)
12. Bongio M, P van den Beucken J, Nejadnik M, Leeuwenburgh S, Kinard L, Kasper F, Mikos A, Jansen J. *European Cells and Materials*, **22**, 359 (2011)
13. Petersen J, Schmidt R, Lessel R, Sorensen J-E. Patente US7.678.146 B2. Polyacrylamide hydrogel and its use as an endoprosthesis (2010)
14. Karadag E, Saraydin D, Cetinkaya S, Güven O. *Biomaterials*, **17**, 67 (1996)
15. Saraydin D, Ünver-Saraydin S, Karadag E, Koptagel E, Güven O, *Nucl. Instr. and Meth. In Phys. Res. B.* **217**, 281 (2004)
16. Figura 1 tomada de <http://biomodel.uah.es/tecnicas/elfo/inicio.htm>
17. Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24**, 721 (1990)
18. Oyane H, Kim M, Furuya T, Kokubo T, Miyazaki T, Nakamura T, *J. Biomed. Mater. Res.*, **65A**, 188 (2003)
19. Kim JS, Kim JS, Kim IY, Kim NG, Kim S, *J. Macromolecular Scienceew, Part A: Pure and Applied Chemistry*, **42**, 811 (2005)
20. Cárdenas D, Acevedo P, Córdoba E. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.*, **33**(2), 214 (2013)
21. Bucarito J, Fuentes MV, Prin JL, García A, Rojas de Astudillo L, Barrios E, Rojas de Gáscue B, *Rev. Iberoam. Polím.*, **15**(1), 7(2014)
22. Prin JL, González N, Villaroel H, Ramírez M, Rojas de Gáscue B. 2012. *Rev. LatinAm. Metal. Mat.* **S5**, 20 (2012)
23. Schott H. *Journal Pharmacy Science*, **81**, 467 (1992)
24. Ganji F, Vasheghani-Farahani S, Vasheghani-Farahani E, *Iran Polym J.*, **19**, 375 (2010)
25. González N, Contreras J, López-Carrasquero F, El-Halah A, Torres C, Prin JL, Benítez J, Rojas de Gáscue B, *Interciencia*, **38**(6), 430 (2013)
26. De Souza MG, “Evaluación de polímeros hidrogeles de redes interpenetradas (IPN): Síntesis, capacidad absorbente y propiedades en fluidos fisiológicos simulados” Tesis de Grado. Departamento de Química, Instituto Universitario de Tecnología de Cumaná, Venezuela (2012)