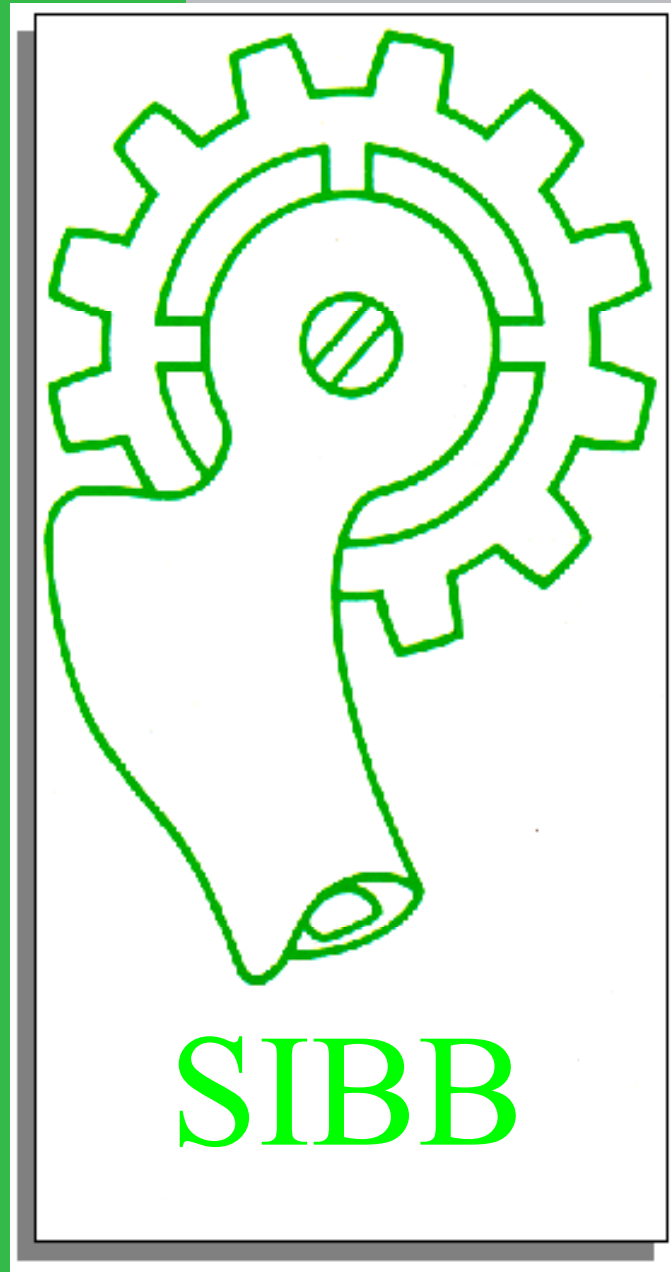


BIOMECÁNICA



Órgano oficial de la Sociedad Ibérica
de Biomecánica y Biomateriales

Volumen 27

2019

ISSN-e:1885-9518

BIOMECAÁNICA

Órgano Oficial de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales

Página web SIBB: <http://www.e-sibb.org>

Página web *Biomecánica*: <http://revistes.upc.edu/ojs/index.php/SIBB/>

Redacción:

Daniel Rodríguez Rius
Dept. de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica
Escola d'Enginyeria de Barcelona Est (EEBE)
Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)
Av. Eduard Maristany, 10-14, Edifici I
08930 - Sant Adrià del Besòs (Barcelona)
Correo electrónico: revista.biomecanica@e-sibb.org

Diego Velasco Bayon
Dept. de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial
Escuela Politécnica Superior,
Universidad Carlos III de Madrid
Avda. de la Universidad, 30
28911 - Leganés (Madrid)
Correo electrónico: revista.biomecanica@e-sibb.org

Especialidad:

Especialistas en traumatología, medicina deportiva, rehabilitación, ingeniería biomecánica y biomateriales.

Periodicidad: 1 número al año

Depósito legal: B: 9920-2006

ISSN-e: 1885-9518

BIOMECÁNICA

CONSEJO DE DIRECCIÓN

Director - Diego Velasco Bayón
Director Adjunto - Daniel Rodríguez Rius
Secretario de Redacción - Pere Puig Mir

COMITÉ CIENTÍFICO

Àrea de Cirugía Ortopédica y Traumatológica

Coordinador - Joan Valentí Ardanuy
M. Fernández Fairén
J. Usabiaga Zarranz
A. Carranza Bencano
L. Gómez Pellico

Àrea de Biomateriales

Coordinador - Francisco Javier Gil Mur
E. Jorge Herrero
J. San Román del Barrio
J. J. Vázquez Solsona
F. J. Monteiro
M. Barbosa

Àrea de Biomecánica Deportiva

Coordinador - Marcos Gutiérrez Dávila
A. García Fojeda
K. Gianikellis
R. Arellano Colomina
P. Vera Luna

JUNTA DIRECTIVA DE LA SIBB

Presidente efectivo - Enrique Navarro Cabello
Presidente electo - Diego Velasco Bayón
Presidente saliente - Daniel Rodríguez
Secretario - Luis M. Rodríguez Lorenzo
Tesorero - Esteban Colell Llovera
Director de la revista - Diego Velasco Bayón
Coordinador de la página web - Daniel Rodríguez

Vocales

José Campos Granell
Francisco Javier Gil Mur
Daniel Rodríguez Rius
Julio San Román del Barrio
Antonio Viladot Voegli
Inês C. Gonçalves de Almada Lobo

Antiguos Presidentes

Daniel Rodríguez Rius (2016-2019)
José Antonio de Pedro Moro † (2015-2016)
Francisco Javier Rojas Ruiz (2013-2015)
Juan Carlos Rodríguez Cabello (2011-2013)
Antonio Viladot Voegli (2009-2011)
José Campos Granell (2008-2009)
Julio San Román del Barrio (2005-2008)
Joan Valentí Ardanuy (2003-2005)
Marcos Gutierrez Dávila (2001-2003)
Francisco Javier Gil Mur (1999-2001)
Mariano Fernández-Fairén (1997-99)
Francisco Biosca Estela (1995-97)
Juan José Vázquez Solsona (1993-95)
Luis Fernando Llanos Alcázar (1991-93)
José Antonio Planell Estany (1987-90)
Luis García Font † (1986)
Antonio Viladot Pericé † (1983-85)
Justo Nieto Nieto (1980-82)
Claudio Hernández Ros (1977-79)

Antiguos Directores

Daniel Rodríguez Rius
Luis Fernando Llanos
Maria Pau Ginebra Molins
Josep Antón Planell
Francisco Forriol
José Carlos Rodríguez Cabello
C. Aparicio Bádenas

Normas editoriales

1. Información general

Biomecánica publica trabajos originales, estudios de investigación, temas de actualización y colaboraciones especiales del ámbito de la traumatología, medicina deportiva, rehabilitación, ingeniería biomecánica y biomateriales:

Correo electrónico: revista.biomecanica@e-sibb.org

Correo postal:

Daniel Rodríguez Rius / Diego Velasco Bayón
Dept. de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica
Escola d'Enginyeria de Barcelona Est (EEBE)
Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)
Av. Eduard Maristany, 10-14, Edifici I
08930 - Sant Adrià del Besòs (Barcelona)

Los manuscritos deben ser originales y no estar pendientes a publicarse en otras revistas. *Biomecánica* no se hace responsable de la opinión o criterio de los autores. Se reserva el derecho de propiedad de los trabajos publicados, que no deben ser reproducidos sin su autorización.

2. Preparación de manuscritos.

General: Los manuscritos deben ser entregados en procesador de texto (preferentemente en Word), a doble espacio con márgenes amplios y tamaño de fuente entre los 10 y 12 puntos. Conviene evitar un uso excesivo de formatos ya que la mayoría de los ellos serán eliminados o reemplazados durante el procesamiento de su artículo. No utilice formatos automáticos de párrafo, tales como: justificación de texto, separación silábica, doble columna o enumeración de párrafos (especialmente para referencias numeradas). Sin embargo, se pueden utilizar formatos para las fuentes tales como negritas, cursivas, subíndices, superíndices, etc. Los editores se reservan el derecho de ajustar estilos con el fin de uniformar el formato. En la dirección de correspondencia debe especificarse claramente el destinatario, el número de fax y correo electrónico. También deberá anexarse la dirección postal completa de cada coautor. El estilo que se prefiere es: Apellido, Iniciales de Nombre, Departamento, Institución, Ciudad/Comunidad, Código Postal, País. Los autores deberán conservar copias de todas las versiones del manuscrito enviadas a la revista.

Resumen: Todos los manuscritos deben entregarse con un resumen de entre 100 y 200 palabras.

Palabras clave: Los autores deben proporcionar entre 4 y 6 palabras clave para propósitos de índice.

Tanto el resumen como las palabras clave deben enviarse en inglés y español o portugués.

Texto: Siga este orden al construir su manuscrito: Título, Autores, Afiliaciones, Resumen, Texto, Agradecimientos, Apéndice, Bibliografía, leyendas de las Figuras y después Tablas. Las Figuras y Tablas deben presentarse en hojas aparte. No importe o inserte sus Figuras o Tablas en el texto. El autor a quien debe dirigirse la correspondencia debe identificarse con un asterisco y una nota al pie de página.

Unidades: Para todos los datos científicos y de laboratorio presentados deberá usarse el Sistema Internacional.

Introducción: Deben presentarse brevemente los antecedentes y el estado presente del tema de estudio.

Materiales y Métodos: Deben detallarse los materiales, protocolos experimentales, técnicas usadas, métodos de evaluación, etc. Los modelos experimentales deben describirse en suficiente detalle para permitir a otros investigadores la reproducción de los resultados. Debe incluirse una completa referencia al tipo de análisis estadístico empleado.

Resultados: Su presentación debe ser clara y concisa. Se recomienda el empleo de tablas y figuras. Todos los resultados expuestos deben haber sido obtenidos de acuerdo a la metodología descrita en la sección de Materiales y Métodos.

Discusión: Los resultados obtenidos e información que los respalde deben explicarse y correlacionarse con aquellos reportados en la literatura. En este sentido, es necesaria una revisión bibliográfica adecuada. Debe de subrayarse la importancia del estudio presentado y su proyección de futuro.

Conclusión: Deberá ser breve, haciendo énfasis en los aspectos originales más relevantes del estudio presentado.

Agradecimientos: Si fuesen necesarios, aparecerán después de las Conclusiones.

Bibliografía: Todas las publicaciones citadas en el texto deben presentarse en una lista de referencias bibliográficas después del mismo en el manuscrito. En el texto, para referirse a la bibliografía, indíquela con un número consecutivo entre corchetes según orden de aparición (Ej. Ya que Peterson[1]), y una referencia completa debe de agregarse en la lista enumerada al final del escrito. La bibliografía debe seguir el siguiente formato:

1. Gough JE, Christian P, Scotchford CA, Rudd CD, Jones JA. Synthesis, degradation and in vitro cell responses of sodium phosphate glasses for craniofacial bone repair. *J Biomed Mater Res* 2002;59:481-489.
2. Nancollas H. In vitro studies of calcium phosphate crystallisation. In: Mann S, Webb J, Williams RJP, editors. *Biomaterialization. Chemical and biochemical perspectives*. New York: VCH, 1989. p. 157-182.
3. Brown W, Chow LC. Combinations of sparingly soluble calcium phosphates in slurries and paste as mineralizers and cements. US Patent No. 4612053, 1986.

Tablas y figuras: Todas las tablas y figuras deben enumerarse independientemente, con numeración arábica.

Tablas: no deben duplicar los resultados presentados en algún otro lugar dentro del manuscrito (por ejemplo en figuras). Debe proporcionarse un título adecuado para cada tabla. Éste debe escribirse antes de la tabla. No debe utilizarse reglas verticales, y conviene evitar tablas excesivamente complejas.

Figuras: Es necesario presentar versiones electrónicas de las ilustraciones, que pueden ser enviadas en archivos .jpg o importadas a Word o PowerPoint. Las leyendas de las figuras deben proporcionarse en una página independiente, después de la bibliografía. En microfotografías debe aparecer una barra de escala.

3. Proceso editorial

Los manuscritos serán evaluados por revisores independientes seleccionados por el Consejo de Redacción y el Comité Científico de *Biomecánica*. En caso de que el manuscrito necesite correcciones, estas tendrán que enviarse a la revista en un periodo no mayor a dos meses después de haber sido notificadas al autor. Una vez este tiempo haya concluido, si no hay respuesta, el manuscrito se devolverá al autor y se descartará su publicación. Ningún manuscrito será aceptado hasta que no se hayan hecho las correcciones correspondientes.

4. Autorización de publicación

Los artículos publicados en *Biomecánica* se distribuirán también electrónicamente mediante su incorporación en un repositorio electrónico.

Estos artículos se publican a través de una licencia de uso Creative Commons que permita a los usuarios de la revista su reproducción, distribución y comunicación pública siempre y cuando no se modifique la obra original, no se haga para un uso comercial y se cite la fuente original.

La publicación de los artículos en esta revista implica la aceptación por parte de los autores de las condiciones expresadas.

En ningún caso esta aceptación implica una cesión en exclusiva de los derechos de explotación del autor sobre la obra publicada ni impide

Instructions to authors

1. General information

Biomecánica publishes original works, research studies, research updates and special collaborations in the fields of orthopedics, sports medicine, rehabilitation, biomechanics and biomaterials engineering. Manuscripts must be sent to the following address:

E-mail: revista.biomecnica@e-sibb.org

Post mail:

Daniel Rodríguez Rius / Diego Velasco Bayón
Dept. de Ciència dels Materials i Enginyeria Metal·lúrgica
Escola d'Enginyeria de Barcelona Est (EEBE)
Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)
Av. Eduard Maristany, 10-14, Edifici I
08930 - Sant Adrià del Besòs (Barcelona)

The manuscripts must be original, and should not be under consideration for publication elsewhere. *Biomecánica* does not take any responsibility on the opinions and criteria of the authors, and it reserves the right of property of the works published, which should not be reproduced without its authorization.

2. Manuscript preparation

General: Manuscripts must be word processed (preferably in Word format), double-spaced with wide margins and a font size of 12 or 10 pt. Please avoid excessive layout styling as most formatting codes will be removed or replaced during the processing of your article. In addition, do not use options such as automatic word breaking, justified layout, double columns or automatic paragraph numbering (especially for numbered references). However do use bold face, italic, subscripts, superscripts etc. The corresponding author should be identified (include a Fax number and E-mail address). Full postal addresses must be given for all co-authors. The Editors reserve the right to adjust style to certain standards of uniformity. The preferred style is: Surname, Initials, Department, Institution, City/State, Postal Code, Country. Authors should retain copies of all versions of their manuscript submitted to the journal.

Abstract: All manuscripts are to be supplied with an Abstract of about 100-200 words in length.

Keywords: Authors must provide 4-6 keywords for indexing purposes.

The abstract and the keywords must be sent in English and Spanish or Portuguese.

Text: Follow this order when typing manuscripts: Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Main text, Acknowledgements, Appendix, References, Figure Captions and then Tables. Do not import the Figures or Tables into your text. The corresponding author should be identified with an asterisk and footnote.

Units: The SI system should be used for all scientific and laboratory data.

Introduction: The background and present state of the subject of study must be presented briefly.

Material and methods: The materials and experimental protocols must be detailed, techniques used, methods of evaluation, etc. The experimental models must be described in sufficient detail to allow other researchers to reproduce the results. A complete reference to the type of statistical analysis used must be presented.

Results: They must be presented in a clear and concise form. The use of tables and figures is recommended. All of the exposed results must have been obtained according to the methodology described in the Material and Methods section.

Discussion: The obtained results and their reliability must be explained, and correlated with those reported in the literature. In this sense, a suitable bibliographical revision is mandatory. It must also be stressed the importance of the study and its future projection.

Conclusion: It must be brief, underlying the more significant original aspects of the presented study.

Acknowledgments: If necessary, they will appear after the Conclusions.

References: All publications cited in the text should be presented in a list of references following the text of the manuscript. " In the text refer to references by a consecutive number in square brackets (e.g. Since Peterson [1]), and the full reference should be given in a numerical list at the end of the paper. References should be written in the following form:

1. Gough JE, Christian P, Scotchford CA, Rudd CD, Jones JA. Synthesis, degradation and in vitro cell responses of sodium phosphate glasses for craniofacial bone repair. *J Biomed Mater Res* 2002;59:481-489.
2. Nancollas H. In vitro studies of calcium phosphate crystallisation. In: Mann S, Webb J, Williams RJP, editors. *Biomineralization. Chemical and biochemical perspectives*. New York: VCH, 1989. p. 157-182.
3. Brown W, Chow LC. Combinations of sparingly soluble calcium phosphates in slurries and paste as mineralizers and cements. US Patent No. 4612053, 1986.

Tables and figures: All tables and figures must be numbered with independent Arabic numeration.

Tables: they should not duplicate results presented elsewhere in the manuscript, (e.g. in graphs). A suitable caption for each table must be provided. Footnotes to tables should be typed below the table and should be referred to by superscript lowercase letters. No vertical rules should be used. Excessively complex tables must be avoided.

Figures: Authors are required to provide electronic versions of their illustrations, which can be submitted either as .jpg files, or imported to Word or Power Point files. Figure captions must be provided in a separate page after the references. In microphotographs a scale bar must be marked on the photograph.

3. Publishing process

The manuscripts will be evaluated by independent referees selected by the Editorial Board and the Scientific Committee of *Biomecánica*. In case the manuscript might need corrections, these will have to be sent to the journal in less than one month after first receiving notice. Once this time elapsed, if there is no response, the manuscript will be given back to the author and it will be discarded for publication. No manuscript will be accepted until the complete corrections are made.

4. Publishing authorization

Articles published in *Biomecánica* are also distributed electronically through incorporation into an electronic repository.

These articles are published through a Creative Commons license that allows journal users reproduction, distribution and public communication, provided that the original work is not altered, is not used for commercial purposes and the original source is acknowledged. The authors of an article accept these conditions by its publication in *Biomecánica*.

In any case this acceptance implies an exclusive transfer of the author copyright on the published article or prevents normal exploitation of the article through the usual ways.

BIOMECÁNICA

Órgano de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales

SUMARIO

Volumen 27 (2019)

ORIGINALES

- 7 Chitosan-based inks: 3Dprinting and bioprinting strategies to improve shape fidelity, mechanical properties, and biocompatibility of 3D scaffolds**
PREMIO CONGRESO SIBB 2018
DOI: 10.5821/sibb.27.1.9199
Ana Mora-Boza, Malgorzata K.Włodarczyk-Biegun, Aránzazu del Campo, Blanca Vázquez-Lasa1, Julio San Román
- 17 Fiabilidad de la velocidad de ejecución en tres modalidades del ejercicio de press de banca: influencia del nivel de experiencia**
PREMIO CONGRESO SIBB 2019
DOI: 10.5821/sibb.27.1.9216
A. García-Ramos, D. Janicijevic, J.M. González-Hernández, D. Ulloa-Díaz, J. Cuevas-Aburto, A. Pérez-Castilla, F.J. Rozas
- 25 Comparación de la sentadilla con salto usando máquina Smith y masa libre / A comparison of jump squats using Smith machine and free weighta**
DOI: 10.5821/sibb.27.1.9249
M. Gutiérrez-Dávila, D. Marcos-Frutos, D. Morato, L. Morata, J. Manrique, C. Gutiérrez-Cruz
- 35 The role of hyaluronic acid and versican in the skin extracellular matrix**
PREMIO ACCÉSIT CONGRESO SIBB 2019
DOI: 10.5821/sibb.27.1.9279
J. González-Rico, C. Quílez, V.López, A. Muñoz-Barrutia, J. L. Jorcano, D. Velasco

SIBB

- 50 Estatutos de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales S.I.B.B.**
Aprobados en la asamblea general extraordinaria del 16 de noviembre de 2019
- 58 Comunicado en relación a la edición 2020 del Congreso Anual de la SIBB**

Chitosan-based inks: 3D printing and bioprinting strategies to improve shape fidelity, mechanical properties, and biocompatibility of 3D scaffolds

Premio Congreso SIBB 2018

A. Mora-Boza¹, M.K. Włodarczyk-Biegun², A. del Campo^{2,3}, B. Vázquez-Lasa¹, J. San Román¹

¹ Institute of Polymer Science and Technology, ICTP-CSIC, and CIBER BNN, Madrid, Spain

² Leibniz-Institute for New Materials, Saarbrücken, Germany

³ Chemistry Department, Saarland University, Saarbrücken, Germany

Resumen

El campo de la impresión y la bioimpresión 3D ha alcanzado un gran desarrollo en los últimos años. La llegada de estas técnicas de biofabricación a la ingeniería tisular han supuesto una revolución debido a las estructuras biomiméticas tan complejas que permiten sintetizar. El uso del quitosano como componente de tintas basadas en polímeros naturales es muy atractivo debido a las propiedades beneficiosas que presenta (alta biocompatibilidad, biodegradabilidad, bajo coste). Sin embargo, su aplicación se ve limitada por su baja solubilidad en condiciones fisiológicas y sus pobres propiedades mecánicas. En este artículo, revisamos el estado del arte relacionado con las estrategias actuales de impresión 3D que hacen uso de tintas y biotintas basadas en quitosano para el desarrollo de soportes biomiméticos. También analizamos las estrategias de entrecruzamiento que se aplican actualmente para mejorar su printabilidad, resaltando además los derivados de quitosano disponibles que permiten encapsular células para bioimpresión 3D, incluyendo además nuestra contribución al campo. Preveamos que el uso de quitosano en la impresión 3D aumentará significativamente en los próximos años gracias a los esfuerzos que se están desarrollando en términos de mecanismos de gelificación y derivados de quitosano que permiten la encapsulación celular.

Palabras clave: quitosano, impresión 3D, fidelidad de forma, ingeniería tisular, procesos de gelificación

Abstract

3D printing and bioprinting fields have experienced a rapid development in the last years. The arrival of this biofabrication technology to tissue engineering applications has revolutionized the field, since highly complex and biomimetic constructs can be synthesized. Chitosan is a promising natural-derived polysaccharide to be used as ink because of their attractive properties (e.g. biodegradability, biocompatibility, low cost). Nevertheless, its application has been limited due to their poor solubility properties at physiological conditions and soft stiffness, which significantly reduces shape fidelity and resolution of the printed scaffolds. This paper reviews the state-of-the-art in terms of 3D printing technology using chitosan-based inks and bio-inks. Printing and crosslinking strategies applied to improve printability of the inks are also reviewed, highlighting the current available chitosan derivatives that can be used for cell-encapsulation in 3D bioprinting. Finally, we also describe our contribution to the field using a novel crosslinker compound to improve shape fidelity and biological features of 3D printed scaffolds. We envision that the use of chitosan in 3D printing will significantly increase over the next years thanks to the many efforts are being made in terms of development of new gelation mechanisms and chitosan derivatives that allow cell encapsulation.

Keywords: chitosan, 3D printing, shape fidelity, tissue engineering, gelation process

Acronyms List

3D - three-dimensional
ECM - extracellular matrix
TPP - tripolyphosphate
HBC - hydroxybutyl-chitosan
GelMA - methacrylated gelatin
UV - ultraviolet
CMC - Carboxymethyl-chitosan
MSCs - mesenchymal stem cells
iPSCs - induced pluripotent stem cells
 β -GP - β -glycerolphosphate

Introduction

Three-dimensional (3D) printing has arisen in the last years as a promising tool for the development of biofunctional and biomimetic 3D scaffolds for tissue engineering applications. 3D printing is an additive manufacturing technique that allows the fabrication of extremely precise structures with high degree of complexity and meticulous details at the micrometer level [1, 2]. Moreover, cell-laden scaffolds can be also synthesized by using bioinks, which are the combination of printable materials and living cells. This process is termed 3D bioprinting or cellular 3D printing [1, 3, 4].

3D printing provides important advantages that can play a pivotal role in the effective regeneration of tissues respect to traditional fabrication techniques (e.g. solvent casting, freeze drying, electrospinning). These conventional methods usually lead to uncontrolled and random pore distribution since they are not able to fabricate accurate pore sizes and geometries, which also result in low interconnectivity [2]. Moreover, inaccurate cell distribution due to random geometries generated by traditional methodologies can be problematic because cell growing and differentiation processes usually need from precise arrangements depending on the tissue function [2, 4]. For example, endothelial cells need from aligned structures for the development of blood vessels or osteoblasts arrange to form mineralized clusters [2] or other tissues, like cartilage, are characterized by hierarchical structures with very specialized cells in each layer [4, 5].

3D printing has traced a continuous evolution in the last decades to overcome these limitations and brings the opportunity to fabricate scaffolds that promote functional tissue regeneration. Nevertheless, researching on novel biocompatible inks and printing strategies that fulfil the main biofabrication requirements is still necessary for the progress of the field.

Hydrogels have been traditionally used for tissue engineering applications due to their excellent biocompatibility, since they recapitulate the natural extracellular matrix (ECM) and provide a highly hydrated environment for mechanical and biological cell support [4]. Many efforts have been made to enhance bioactivity and biocompatibility of hydrogels for functional tissue regeneration, but little attention has been paid to the improvement of their physico-chemical and mechanical properties [1, 3, 4]. The bottleneck of hydrogel-based inks use in 3D printing is their lack of printability due to their high-water content which leads to poor mechanical properties and processability. Printability is a key factor regarding 3D printing because it is an essential property to achieve high resolution and shape fidelity. Thus, fast crosslinking mechanisms are interesting to improve printability of hydrogels because a fast phase transition (from a liquid-like solution to a solid state) will improve manufacturing process [3, 6]. Finally, a suitable ink must also exhibit shear-thinning properties while printing, adequate mechanical stability for maintaining the shape after printing, and good structural integrity at physiological conditions. Moreover, they should be cytocompatible if cells are encapsulated and printed along with the hydrogel [7].

Chitosan is a natural polysaccharide obtained from the alkaline deacetylation of chitin, and composed of randomly distributed β -(1 \rightarrow 4)-linked D-glucosamine (deacetylated unit) and N-acetyl-D-glucosamine (acetylated unit) (Figure 1) [6, 8]. Chitosan is biodegradable, biocompatible, non-toxic, and its origin makes it a renewable and eco-friendly material [8]. Chitosan exhibits a pKa value of 6.2, which means that below this pH, amino groups (NH₂) of chitosan chains are protona-

ted (NH_3^+), and the polymer becomes cationic and soluble. Above this pH chitosan remains insoluble (Figure 1). In addition, positive charges of chitosan allow it to interact with a wide range of molecules. However, chitosan is characterised by weak mechanical properties, specially under hydrated conditions [8]. Thus, numerous efforts have been made to improve the mechanical strength of chitosan by the incorporation of additives [9-14] or the application of different gelation methods [15]. Specifically, chitosan can experience a sol-gel transition by different gelation processes which can be ionotropic, mediated by crosslinkers, or complexation with other polymers (polyelectrolyte formation) [15].

Although the number of studies that use chitosan in the 3D printing field has increased exponentially in the latest ten years, the application of this polymer to this technology remains relatively low [16]. Some last studies have claimed the use of chitosan instead of alginate (i.e. the quintessential hydrogel-based printable material) due to its better properties regarding cellular proliferation and differentiation [17]. Here, we describe the most recently applied printing techniques and crosslinking methods for chitosan in 3D

(bio)printing field. We also highlight the implemented chemical modifications to enhance the use of chitosan in bioprinting applications, including our contribution to the field using chitosan-based inks. We envision that the further implementation of chitosan to printing technology will open a new door to the used of hydrogel-based inks for the fabrication of complex structures with promising applications in tissue engineering and drug delivery applications.

3D printing approaches for the use of chitosan-based inks

Hydrogel-based inks printability remains a challenge due to their stiffness and shrink tendency, which is one of the limiting factors in terms of shape fidelity. In this context, several strategies have been explored to improve hydrogel printing accuracy in the last years. One approach is the use of high viscous polymeric solutions, which are usually useful to obtain solid filaments that allow the deposition of robust hydrogel scaffolds with self-supporting capacity [4, 18]. Viscous inks can be obtained by: (i) increasing total polymer concentration, (ii) using polymers with high molecular

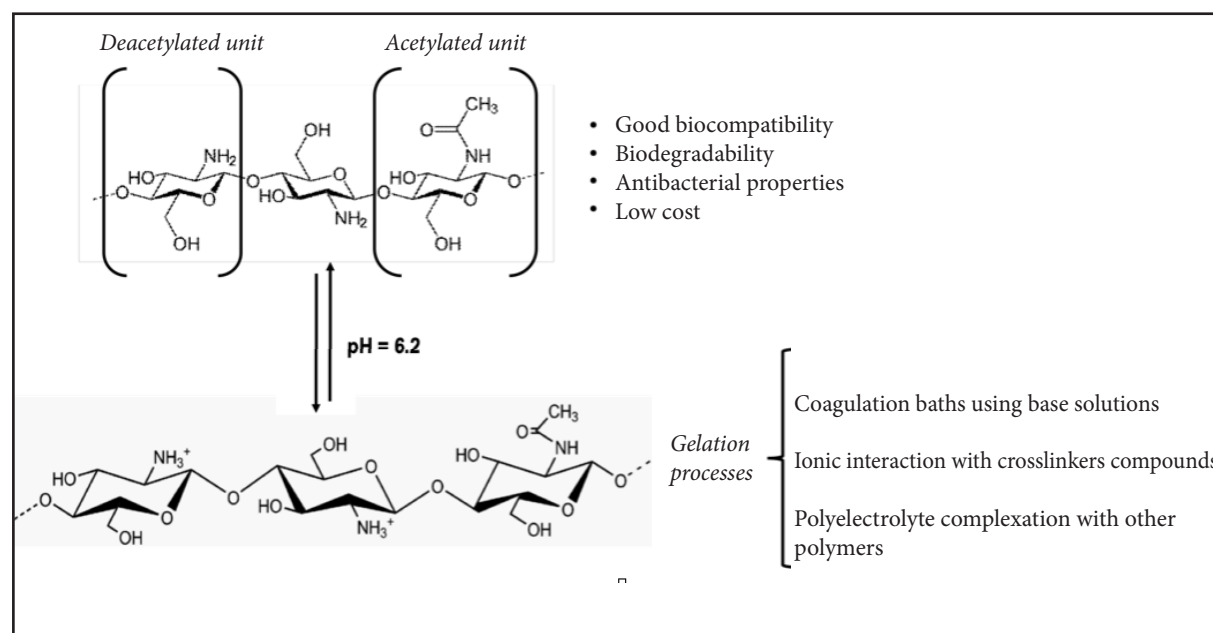


Figure 1. Chitosan chemical structure and transition phase at pH 6.2.

weight, or (ii) combining two different polymers that can form polyelectrolyte complexes [4]. Other approaches to enhance 3D printing deposition with high resolution are more focused on the development and optimization of crosslinking techniques which allow a fast sol-gel transition [15]. This approach is in somewhat preferably in comparison to high viscous solutions, since a low polymer content (<10 wt-%) will provide a lesser dense polymeric network with improved cellular performance [4].

The characteristic pH-sensitivity of chitosan provides an excellent opportunity to explore its gelation abilities, which have been successfully adapted to 3D printing methodologies. Moreover, crosslinking and neutralization of chitosan to neutral pH is necessary previously to cell seeding [19].

Neutralization baths

As it has been explained before, chitosan phase rapidly precipitates at pH above 6.2. This transition from soluble to insoluble results in the formation of a hydrogel due to the neutralization of amino groups present in chitosan chains. Thus, hydrogen bonding and hydrophobic chain interactions are formed. However, neutralization steps are usually accompanied by shrinkage processes which significantly reduce the shape fidelity and resolution of the printed scaffolds [6, 18]. To avoid this effect, Zhang et al. [18] proposed the incorporation of silk particles to chitosan solution to enhance mechanical properties and reduce post-shrinkage due to coagulation in 12 wt-% NaOH solution after printing each layer. 3D printed scaffolds showed improved post-printing fidelity and mechanical properties, since compressive modulus increased up to 5-fold after silk particles reinforcement. Wu et al. [6] analysed in their study the effect of neutralization steps on the mechanical properties and printing fidelity of very intricate structures. They used very concentrated chitosan solution (10 wt-%) that was dissolved in an acidic mixture, and 3D printed scaffolds were immersed in a 1 M NaOH solution as coagulation bath. In this work, the authors were able to fabricate complex scaffolds with very

high resolution ($\approx 30 \mu\text{m}$). In other interesting work, Almeida et al. [20] analysed the cytokine secretion profile of seeded macrophages in chitosan 3D printed scaffolds that were neutralised after immersion in a 8 wt-% NaOH solution. They surprisingly found out that macrophage responses were dependent on specific parameters of the 3D printed structures (e.g. chemistry, topography, architecture).

Freeze deposition methodology combined with subsequent neutralization steps have been also widely applied for the 3D printing of chitosan-based inks [15, 21, 22]. Elvir et al. [21] prepared chitosan scaffolds by their deposition in a cryogenic chamber followed by gelation in a 8 wt-% KOH solution. In addition, they used raffinose as viscosity modifier. Fibroblasts were seeded on the top of the 3D printed scaffolds and showed excellent cell adhesion and proliferation. This approach was further optimized and applied in diabetic rats for wound healing evaluation by Intini et al. [22]. Wounds treated with their 3D chitosan-raffinose printed scaffolds demonstrated excellent tissue regeneration and functionality respect to commercially available products.

On the contrary, although shrinkage after 3D printing is not desirable to maintain high shape fidelity, it is directly related to hydration capacity, which is an essential property to be evaluated for tissue engineering applications. Since proteins and bioactive compounds adsorption will depend on swelling ratio, this property is crucial to mimic the native ECM and enhance biocompatibility of the 3D printed scaffolds. Bergonzi et al. [15] carried out a profound study where 3D printed scaffolds were neutralized with three different gelation solutions: KOH, Na_2CO_3 , and ammonia vapours. The authors concluded that physical properties and stability at physiological conditions depended deeply on applied coagulation media, and therefore they should be chosen in function of the target area of the body to be repaired.

Ionotropic and crosslinker-mediated gelation

Cationic nature of chitosan provides enough positive charges under acidic conditions to electrostatically interact with negatively char-

ged ions, leading to the formation of a physically crosslinked polymeric network. There is a huge variety of compounds and molecules that can be applied for chitosan crosslinking or gelation (e.g. citrates, phosphates such as tripolyphosphate (TPP)). The type of molecule will have an influence on the swelling and mechanical properties of the formed hydrogel [15]. Nevertheless, the crosslinking kinetics should be fast for its successful application in 3D printing technology to ensure resolution and high printing fidelity [4].

Wang et al. [5] fabricated multi-layered (i.e. consecutive layers) hydrogels scaffolds using hydroxybutyl-chitosan (HBC), a thermosensitive derivative of chitosan, and a one-step ionic post-treatment without the necessity of using strong base solutions. They evaluated the use of different salts and concentrations, concluding that 3D printed scaffolds treated with a 10 wt-% NaCl solution showed the best structural, mechanical and biological features. In other interesting work, Hafezi et al. [23] synthesized 3D printed chitosan scaffolds crosslinked with genipin for wound chronic healing applications. Genipin is an ionic biocompatible crosslinker with low cytotoxicity,

anti-inflammatory and antibacterial properties [24].

In our group, we synthesized a novel bioactive ionic crosslinker name glycerylphytate [25] that was successfully applied in 3D printing technology [7]. In this work, multi-layered 3D printed scaffolds were fabricated using a dual-step crosslinking process. A blend ink of low polymer content (8 wt-%) composed of methacrylated gelatin (GelMA) and chitosan was first irradiated with ultraviolet (UV) light to carry out photopolymerization of GelMA, followed by ionic crosslinking of amino groups present in chitosan and GelMA with glycerylphytate without the necessity of harsh neutralization or several washing steps. Thus, 3D scaffolds with excellent shape fidelity and long-term stability were obtained (Figure 2a). Moreover, these scaffolds showed improved biological features in comparison to 3D printed scaffolds that were crosslinked with the traditionally used TPP (Figure 2b), which is also a phosphate-based ionic crosslinker. Specifically, glycerylphytate-crosslinked scaffolds showed higher L929 fibroblasts adhesion and proliferation over time than TPP-crosslinked scaffolds [7].

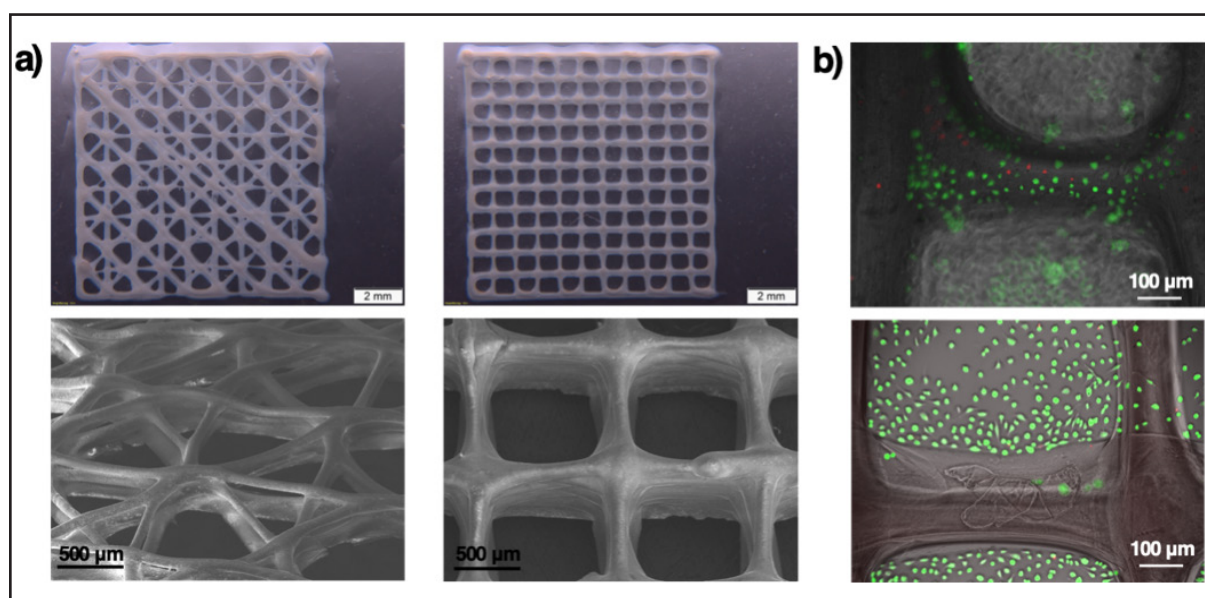


Figure 2. a) Light microscopy pictures (top) and scanning electron micrographs (bottom) of multi-layered 3D printed scaffolds with different geometries using dual-step crosslinking processes consisted of UV light irradiation and immersion in glycerylphytate solution for ionic crosslinking; b) Fluorescence pictures of live/dead assay performed on glycerylphytate-crosslinked scaffold (top) and TPP-crosslinked scaffold (bottom) after 24 hours of L929 fibroblasts seeding.

Polyelectrolyte complexes formation

The formation of chitosan polyelectrolyte complexes is an interesting approach to improve mechanical properties of hydrogel-based inks by the blending of different polymers (e.g. gelatin, alginate) that can provide additional features to the systems than when they are used individually [15]. The formation of polyelectrolyte complexes involves electrostatic interactions between the mixed polymers, which exhibit opposite charges. Liu et al. [26] obtained 3D printed scaffolds from an alginate-chitosan polyion complexes ink. The addition of chitosan to the polyanionic alginate was useful to increase the viscosity of alginate solution. Thus, 3D structures with excellent shape fidelity and improved mechanical strength were obtained. Ng et al. [27, 28] used gelatin-chitosan polyelectrolyte hydrogels for the 3D printing of skin constructs. The blend ink also exhibited higher viscosity due to the combination of both polymers that eased the 3D deposition of complex structures. In our work, where a GelMA/chitosan ink was crosslinked with UV light and glycerylphytate crosslinker, we observed a similar behaviour. Viscosity of the blend between GelMA and chitosan increased the viscosity of the ink solution respect to those of individual components, obtaining a self-standing filament that eased 3D deposition but still having a low concentrated ink (8 wt-% of total polymer content) [7]. This is an interesting approach not only because different polymers can be combined and provided their respective benefits to the whole system, but also because high viscosities can be achieved with relatively low polymer content attributed to interactions of polyelectrolytic type. This strategy will finally enhance printability of blend hydrogel solutions.

Photocrosslinkable chitosan derivatives

Photopolymerization is an interesting technique for the development of stable covalent-crosslinked hydrogels. In the last years, UV-crosslinkable chitosan derivatives have been developed and successfully applied in 3D printing [1, 11, 29, 30]. Sayyar et al.

[11] carried out an interesting work where they combined photocrosslinkable chitosan and chemically converted graphene for the synthesis of 3D printed conducting scaffolds. The addition of graphene to the composites improved not only mechanical properties of chitosan scaffolds but also their biocompatibility, as L929 murine fibroblasts showed higher cell adhesion. These scaffolds were also immersed in an isopropanol bath to achieve complete crosslinking. Saraiva et al. [30] also used methacrylated-chitosan in combination to GelMA to obtain more stable structures and enhance mechanical properties derived from photopolymerization processes of both polymers. The printed scaffolds were biocompatible and supported surface cells adhesion and internalization.

Following other strategies, a different photosensitive chitosan was implemented by Bardakova et al. [31]. In this study, a chitosan-g-oligo (L,L-lactide) copolymer was synthesized and photopolymerized using two-photon polymerization induced by microstereolithography method. The authors envisioned that their 3D printed structures would be excellent candidates for treating spinal cord injuries by the straightforward application of light and a chitosan-based ink.

3D bioprinting of chitosan-based bioinks

3D bioprinting is an attractive biofabrication technique for the synthesis of intricate bioactive constructs since it allows the simultaneous deposition of living cells and bioactive compounds along with biomaterials [10, 32]. 3D bioprinting is a very customizable technology through which cells can be deposited at precisely controlled locations to mimic native tissue architectures [32]. The combination of living cells and biomaterial solutions are termed bioinks and they must meet a number of requirements for their successful processability: (i) suitable rheological properties to guarantee filament deposition; (ii) adequate mechanical properties to ensure shape fidelity and avoid collapse between subsequent layers;

(iii) biocompatibility to ensure cell viability during printing process; and (iv) excellent cytocompatibility to support cell proliferation and differentiation [3, 4, 29, 33]. The characteristic pH sensitivity of chitosan is the main disadvantage for its application in 3D bioprinting. The necessary acidic conditions to obtain an adequate solubility of the polymer are not cell friendly, therefore impeding cell encapsulation in the ink. For this reason, chitosan derivatives that are soluble at physiological conditions have been extensively developed and evaluated in the last years [16].

Carboxymethyl-chitosan (CMC) is an attractive chitosan derivative which exhibits excellent solubility properties at a pH range between 7-9. Thus, it has been widely applied in 3D bioprinting as it allows cell encapsulation. Huang et al. [32] used a polysaccharide bioink blend composed of CMC, alginate, and gelatin together with bone mesenchymal stem cells (MSCs). The as-obtained 3D printed scaffolds were ionically crosslinked with CaCl_2 solution. Moreover, the 3D constructs exhibited high cell viability (around 85%) after 0 and 2 days of printing. In other work, Gu et al. [34] also used a similar polysaccharide combination for the 3D bioprinting of constructs that supported survival, proliferation and differentiation of human induced pluripotent stem cells (iPSCs). They extruded a bioink compounded by alginate, agarose, and CMC including iPSCs to fabricate 3D constructs that were crosslinked with CaCl_2 solution. The authors claimed that the addition of CMC provided scaffolds with beneficial properties such as adequate porosity and permeability, low inflammatory reaction, antimicrobial responses, and it even enhanced biological features regarding cell differentiation.

β -glycerolphosphate (β -GP) has opened the door for the application of novel thermosensitive chitosan-based hydrogel with spontaneous gelation at physiological temperature in different biofabrication techniques [29, 35]. Although the crosslinking mechanism between chitosan and β -GP re-

mains not well established, it is known that the addition of β -GP to chitosan solution rises the pH to neutral value and the as-obtained hybrid hydrogel exhibits thermosensitivity, being able to spontaneously form hydrogels at 37 °C [17, 36]. Demirtas et al. [17] presented a bioprintable form of chitosan using β -GP for the first time. They successfully printed MC3T3-E1 preosteoblast cell-laden hydrogels by thermal crosslinking. Moreover, they claimed the superiority of chitosan respect to alginate regarding cell performance. The benefits of β -GP/chitosan combination were also taken by Roehm et al. [36], who optimized a 3D bioprinting approach using a chitosan-gelatin blend ink that included IMR-32 cells from neuroblastoma. Addition of β -GP to the bioink allowed hydrogel formation at body temperature without the necessity of post-printing processes. In addition, 3D bioprinted scaffolds showed homogeneous cell distribution and high cell viability.

HBC is a water soluble and thermosensitive chitosan derivative that has been also applied in 3D bioprinting. HBC exhibits improved solubility properties at physiological conditions while maintaining chitosan biocompatibility properties, which eases cell encapsulation [37]. Li et al. [37] used HBC in combination with oxidized chondroitin sulfate hydrogel for cartilage tissue regeneration. In this work, blend bioink was crosslinked by Schiff-based reaction, and pluronic F127 acted as sacrificial mold to improve shape fidelity and resolution of the bioprinted structures. Encapsulated-human adipose-derived MSCs showed low inflammatory expression profile *in vitro* and weak inflammatory response *in vivo*.

Finally, a novel chitosan-cathecol bioink was recently developed by Lee et al. [38]. This bioink was directly printed in culture media, and vanadyl ions were added to improved mechanical properties of the constructs. The bioprinted systems having L929 encapsulated-fibroblasts showed high cell viability ($\approx 90\%$), demonstrating that this is a promising and step-forward 3D bioprinting methodology to fabricate stable constructs (Figure 3).

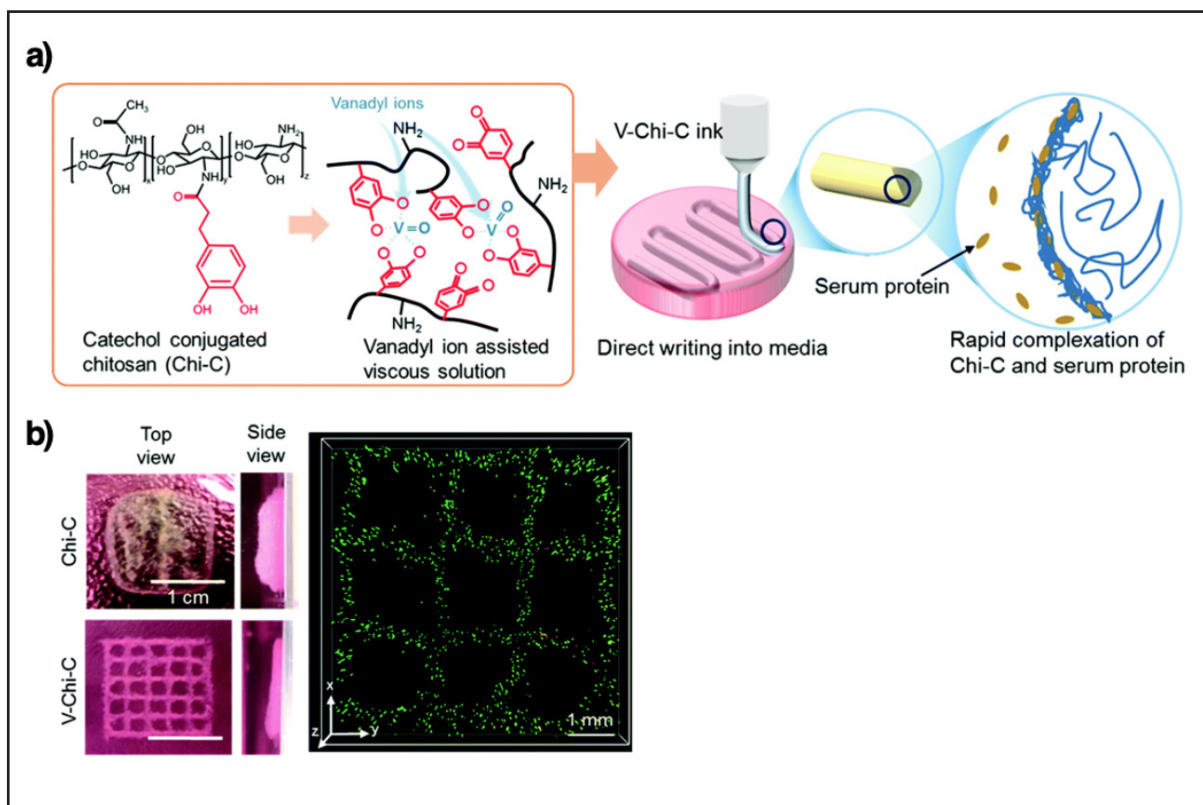


Figure 3. a) Schematic preparation of chitosan-catechol bioink and 3D bioprinting process; b) 3D bioprinted scaffolds pictures and live/dead assay performed on the scaffolds after printing process. Adapted from ref. [38] with permission from The Royal Society of Chemistry.

Conclusions and future perspectives

Undoubtedly, 3D printing and bioprinting have emerged as revolutionary technologies, promising to counteract conventional fabrication limitations. Current 3D printing mechanisms allow precise design and fabrication of intricate constructs through layer-by-layer deposition of biomaterials and cells. However, the lack of printable hydrogel-based inks is hampering the progress of this technology for actual clinical applications. Chitosan has seized only a small area of its potential use in 3D printing and bioprinting fields due to its low printability properties. We present in this paper different chemical modifications of this polysaccharide or its combination with other compounds, which are attractive strategies to broaden its application. Currently, many efforts are being made on the development of new gelation mechanisms to improve not only chitosan processability and functionality, but also cell-encapsulation capacity. The summary

of works presented in this paper can be a representative example of the substantial contribution chitosan can make to 3D printing field in terms of tissue regeneration, as a myriad of studies support its beneficial properties and key role in the repair of several damage tissues [8, 39]. In conclusion, due to the transformation of 3D printing methodology to a more accessible technology, together with the tendency of using natural-derived materials, it can be predicted that chitosan-based inks will experience an increasing use in the next years.

Acknowledgments

Authors thank financial support to Ministry of Science, Innovation and Universities (Spain) (MAT2017-2017-84277-R), “La Caixa” Foundation (ID 100010434, scholarship of Ana Mora-Boza, code LCF/BQ/ES16/11570018) and DAAD Research Grants-Short-term grants 2017.

References

1. **S. Derakhshanfar, R. Mbeleck, K. Xu, X. Zhang, W. Zhong, M. Xing**, 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances, *Bioact Mater* 3(2) (2018) 144-156.
2. **A.V. Do, B. Khorsand, S.M. Geary, A.K. Salem**, 3D Printing of Scaffolds for Tissue Regeneration Applications, *Adv Healthc Mater* 4(12) (2015) 1742-62.
3. **J. Gopinathan, I. Noh**, Recent trends in bioinks for 3D printing, *Biomater Res* 22 (2018) 11.
4. **J. Malda, J. Visser, F.P. Melchels, T. Jungst, W.E. Hennink, W.J. Dhert, J. Groll, D.W. Huttmacher**, 25th anniversary article: Engineering hydrogels for biofabrication, *Adv Mater* 25(36) (2013) 5011-28.
5. **X. Wang, C. Wei, B. Cao, L. Jiang, Y. Hou, J. Chang**, Fabrication of Multiple-Layered Hydrogel Scaffolds with Elaborate Structure and Good Mechanical Properties via 3D Printing and Ionic Reinforcement, *ACS Appl Mater Interfaces* 10(21) (2018) 18338-18350.
6. **Q. Wu, D. Therriault, M.-C. Heuzey**, Processing and Properties of Chitosan Inks for 3D Printing of Hydrogel Microstructures, *ACS Biomaterials Science & Engineering* 4(7) (2018) 2643-2652.
7. **A. Mora-Boza, M.K. Włodarczyk-Biegun, A. del Campo, B. Vázquez-Lasa, J.S. Román**, Glycerylphytate as an ionic crosslinker for 3D printing of multi-layered scaffolds with improved shape fidelity and biological features, *Biomaterials Science* 8(1) (2020) 506-516.
8. **A. Muxika, A. Etxabide, J. Uranga, P. Guerrero, K. de la Caba**, Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications, *Int J Biol Macromol* 105(Pt 2) (2017) 1358-1368.
9. **C.S.D. Cabral, S.P. Miguel, D. de Melo-Diogo, R.O. Louro, I.J. Correia**, Green reduced graphene oxide functionalized 3D printed scaffolds for bone tissue regeneration, *Carbon* 146 (2019) 513-523.
10. **X. Hu, Y. Man, W. Li, L. Li, J. Xu, R. Parungao, Y. Wang, S. Zheng, Y. Nie, T. Liu, K. Song**, 3D Bio-Printing of CS/Gel/HA/Gr Hybrid Osteochondral Scaffolds, *Polymers (Basel)* 11(10) (2019).
11. **S. Sayyar, S. Gambhir, J. Chung, D.L. Officer, G.G. Wallace**, 3D printable conducting hydrogels containing chemically converted graphene, *Nanoscale* 9(5) (2017) 2038-2050.
12. **P. Chavanne, S. Stevanovic, A. Wuthrich, O. Braissant, U. Pieleles, P. Gruner, R. Schumacher**, 3D printed chitosan / hydroxyapatite scaffolds for potential use in regenerative medicine, *Biomed Tech (Berl)* 58 Suppl 1 (2013).
13. **S. Chen, Y. Shi, X. Zhang, J. Ma**, Biomimetic synthesis of Mg-substituted hydroxyapatite nanocomposites and three-dimensional printing of composite scaffolds for bone regeneration, *J Biomed Mater Res A* 107(11) (2019) 2512-2521.
14. **N.M. Ergul, S. Unal, I. Kartal, C. Kalkandelen, N. Ekren, O. Kilic, L. Chi-Chang, O. Gunduz**, 3D printing of chitosan/ poly(vinyl alcohol) hydrogel containing synthesized hydroxyapatite scaffolds for hard-tissue engineering, *Polymer Testing* 79 (2019).
15. **C. Bergonzi, A. Di Natale, F. Zimetti, C. Marchi, A. Bianchera, F. Bernini, M. Silvestri, R. Bettini, L. Elviri**, Study of 3D-printed chitosan scaffold features after different post-printing gelation processes, *Sci Rep* 9(1) (2019) 362.
16. **T.J. Kean, M. Thanou**, Utility of Chitosan for 3D Printing and Bioprinting, *Sustainable Agriculture Reviews* 352019, pp. 271-292.
17. **T.T. Demirtas, G. Irmak, M. Gumusderelioglu**, A bioprintable form of chitosan hydrogel for bone tissue engineering, *Biofabrication* 9(3) (2017) 035003.
18. **J. Zhang, B.J. Allardyce, R. Rajkhowa, Y. Zhao, R.J. Dilley, S.L. Redmond, X. Wang, X. Liu**, 3D Printing of Silk Particle-Reinforced Chitosan Hydrogel Structures and Their Properties, *ACS Biomaterials Science & Engineering* 4(8) (2018) 3036-3046.
19. **J. Liu, L. Sun, W. Xu, Q. Wang, S. Yu, J. Sun**, Current advances and future perspectives of 3D printing natural-derived biopolymers, *Carbohydr Polym* 207 (2019) 297-316.
20. **C.R. Almeida, T. Serra, M.I. Oliveira, J.A. Planel, M.A. Barbosa, M. Navarro**, Impact of 3-D printed PLA- and chitosan-based scaffolds on human monocyte/macrophage responses: unraveling the effect of 3-D structures on inflammation, *Acta Biomater* 10(2) (2014) 613-22.
21. **L. Elviri, R. Foresti, C. Bergonzi, F. Zimetti, C. Marchi, A. Bianchera, F. Bernini, M. Silvestri, R. Bettini**, Highly defined 3D printed chitosan scaffolds featuring improved cell growth, *Biomed Mater* 12(4) (2017) 045009.
22. **C. Intini, L. Elviri, J. Cabral, S. Mros, C. Bergonzi, A. Bianchera, L. Flammini, P. Govoni, E. Barocelli, R. Bettini, M. McConnell**, 3D-printed chitosan-based scaffolds: An in vitro study of human skin cell growth and an in-vivo wound healing evaluation in experimental diabetes in rats, *Carbohydr Polym* 199 (2018) 593-602.
23. **F. Hafezi, N. Scoutaris, D. Douroumis, J. Boatteng**, 3D printed chitosan dressing crosslinked with genipin for potential healing of chronic wounds, *Int J Pharm* 560 (2019) 406-415.
24. **I.H. Liu, S.H. Chang, H.Y. Lin**, Chitosan-based hydrogel tissue scaffolds made by 3D plotting promotes osteoblast proliferation and mineralization, *Biomed Mater* 10(3) (2015) 035004.
25. **A. Mora-Boza, M.L. López-Donaire, L. Saldaña, N. Vilaboa, B. Vázquez-Lasa, J. San Román**, Glycerylphytate compounds with tunable ion affi-

- nity and osteogenic properties, *Scientific Reports* 9(1) (2019) 11491.
26. **Q. Liu, Q. Li, S. Xu, Q. Zheng, X. Cao**, Preparation and Properties of 3D Printed Alginate(-) Chitosan Polyion Complex Hydrogels for Tissue Engineering, *Polymers (Basel)* 10(6) (2018).
 27. **W.L. Ng, W.Y. Yeong, M.W. Naing**, Polyelectrolyte gelatin-chitosan hydrogel optimized for 3D bioprinting in skin tissue engineering, *International Journal of Bioprinting* 2(0) (2016).
 28. **W.L. Ng, W.Y. Yeong, M.W. Naing**, Development of Polyelectrolyte Chitosan-gelatin Hydrogels for Skin Bioprinting, *Procedia CIRP* 49 (2016) 105-112.
 29. **D.F. Duarte Campos, A. Blaeser, A. Korsten, S. Neuss, J. Jakel, M. Vogt, H. Fischer**, The stiffness and structure of three-dimensional printed hydrogels direct the differentiation of mesenchymal stromal cells toward adipogenic and osteogenic lineages, *Tissue Eng Part A* 21(3-4) (2015) 740-56.
 30. **S.M. Saraiva, S.P. Miguel, M.P. Ribeiro, P. Coutinho, I.J. Correia**, Synthesis and characterization of a photocrosslinkable chitosan-gelatin hydrogel aimed for tissue regeneration, *RSC Advances* 5(78) (2015) 63478-63488.
 31. **K.N. Bardakova, T.S. Demina, E.A. Grebenik, N.V. Minaev, T.A. Akopova, V.N. Bagratashvili, P.S. Timashev**, 3D printing biodegradable scaffolds with chitosan materials for tissue engineering, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 347 (2018).
 32. **J. Huang, H. Fu, Z. Wang, Q. Meng, S. Liu, H. Wang, X. Zheng, J. Dai, Z. Zhang**, BMSCs-laden gelatin/sodium alginate/carboxymethyl chitosan hydrogel for 3D bioprinting, *RSC Advances* 6(110) (2016) 108423-108430.
 33. **M.K. Wlodarczyk-Biegun, A. Del Campo**, 3D bioprinting of structural proteins, *Biomaterials* 134 (2017) 180-201.
 34. **Q. Gu, E. Tomaskovic-Crook, G.G. Wallace, J.M. Crook**, 3D Bioprinting Human Induced Pluripotent Stem Cell Constructs for In Situ Cell Proliferation and Successive Multilineage Differentiation, *Adv Healthc Mater* 6(17) (2017).
 35. **S. Saravanan, S. Vimalraj, P. Thanikaivelan, S. Banudevi, G. Manivasagam**, A review on injectable chitosan/beta glycerophosphate hydrogels for bone tissue regeneration, *International Journal of Biological Macromolecules* 121 (2019) 38-54.
 36. **K.D. Roehm, S.V. Madihally**, Bioprinted chitosan-gelatin thermosensitive hydrogels using an inexpensive 3D printer, *Biofabrication* 10(1) (2017) 015002.
 37. **C. Li, K. Wang, X. Zhou, T. Li, Y. Xu, L. Qiang, M. Peng, Y. Xu, L. Xie, C. He, B. Wang, J. Wang**, Controllable fabrication of hydroxybutyl chitosan/oxidized chondroitin sulfate hydrogels by 3D bioprinting technique for cartilage tissue engineering, *Biomed Mater* 14(2) (2019) 025006.
 38. **D. Lee, J.P. Park, M.Y. Koh, P. Kim, J. Lee, M. Shin, H. Lee**, Chitosan-catechol: a writable bioink under serum culture media, *Biomater Sci* 6(5) (2018) 1040-1047.
 39. **F. Croisier, C. Jérôme**, Chitosan-based biomaterials for tissue engineering, *European Polymer Journal* 49(4) (2013) 780-792.

Fiabilidad de la velocidad de ejecución en tres modalidades del ejercicio de press de banca: influencia del nivel de experiencia

Premio Congreso SIBB 2019

A.García-Ramos^{1,2}, D. Janicijevic³, J.M. González-Hernández⁴,
D. Ulloa-Díaz¹, J. Cuevas-Aburto¹, A. Pérez-Castilla², F.J.Rojas²

¹ Departamento de Ciencias del Deporte y Acondicionamiento Físico,
Universidad Católica de la Santísima Concepción, Concepción, Chile

² Departamento de Educación Física y Deportiva, Universidad de Granada, Granada, España

³ The Research Centre, Universidad de Belgrado, Belgrado, Serbia

⁴ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Europea de Canarias, Tenerife, España

Resumen

El objetivo del estudio fue comparar la fiabilidad de la velocidad media propulsiva (VMP) entre tres variantes del ejercicio de press de banca (PB). Quince hombres con experiencia y 15 sin experiencia con el ejercicio de PB realizaron en orden aleatorizado tres variantes del ejercicio de PB en diferentes sesiones (sólo-concéntrico, excéntrico-rápido y excéntrico-controlado). La VMP se registró ante tres cargas ($\approx 30\%1RM$, $50\%1RM$ y $75\%1RM$) con un transductor lineal de velocidad. La fiabilidad fue siempre alta (coeficiente de variación [CV] $\leq 5,76\%$, coeficiente de correlación intraclass [CCI] $\geq 0,74$). La comparación de los CV reveló una mayor fiabilidad para las variantes sólo-concéntrico y excéntrico-rápido en comparación con la variante excéntrico-controlado (CV ratio $> 1,15$), no existiendo diferencias significativas en fiabilidad entre las variantes sólo-concéntrico y excéntrico-rápido (CV ratio $< 1,15$). No se observaron diferencias en fiabilidad entre los participantes con (CV $\leq 5,76\%$; CCI $\geq 0,83$) y sin experiencia (CV $\leq 5,21\%$; CCI $\geq 0,74$). Estos resultados apoyan el uso de las modalidades de PB sólo-concéntrico y excéntrico-rápido para evaluar la fuerza de los miembros superiores a través de la medición de la velocidad de ejecución en participantes con y sin experiencia con el ejercicio de PB.

Palabras clave: encoder lineal, entrenamiento basado en la velocidad, pórtico guiado, test de fuerza

Abstract

The aim of this study was to compare the reliability of mean propulsive velocity (MPV) between three variants of the bench press (BP) exercise. Fifteen males with experience and 15 without experience with the BP exercise performed in a randomised order three variants of the BP exercise (concentric-only, fast-eccentric, and controlled-eccentric). The MPV was recorded against three loads ($\approx 30\%1RM$, $50\%1RM$ y $75\%1RM$) with a linear velocity transducer. The reliability was always high (coefficient of variation [CV] $\leq 5.76\%$, intraclass correlation coefficient [ICC] ≥ 0.74). The comparison of the CVs revealed a higher reliability for the concentric-only and fast-eccentric compared to the controlled-eccentric BP (CV ratio > 1.15), but not significant differences in reliability were observed between the concentric-only and fast-eccentric BP variants (CV ratio < 1.15). No significant differences in reliability were observed between participants with (CV $\leq 5.76\%$; ICC $\geq 0,83$) and without experience (CV $\leq 5,21\%$; ICC $\geq 0,74$). These results support the concentric-only and fast-eccentric BP variants to evaluate the strength of upper-body muscles through the recording of movement velocity in individuals with and without experience with the BP exercise.

Keywords: linear position transducer, velocity based training, Smith machine, strength test

Introducción

Los programas de entrenamiento de fuerza bien diseñados son capaces de inducir adaptaciones morfofuncionales que conducen a una mejora de la calidad de vida y/o el rendimiento deportivo [1]. Un aspecto fundamental de cualquier programa de entrenamiento de fuerza es la evaluación periódica del nivel de rendimiento [2]. Uno de los ejercicios más utilizados para monitorizar la fuerza y potencia de los miembros superiores es el press de banca (PB) [3,4]. Las dos modalidades de PB más utilizadas son el PB sólo-concéntrico (una pausa es introducida entre las fases descendente y ascendente del movimiento) y el PB excéntrico-concéntrico (la fase ascendente del movimiento se realiza inmediatamente después de la fase descendente sin que exista ninguna pausa previa) [5,6]. La repetición máxima (1RM) es la variable que se ha usado con más frecuencia para evaluar la fuerza dinámica máxima [1]. Sin embargo, aunque la 1RM es un buen indicador de la capacidad para aplicar fuerza a bajas velocidades, la capacidad que tienen los atletas para aplicar fuerza a altas velocidades podría ser más importante en la mayoría de las modalidades deportivas en las que los atletas tienen que vencer cargas submáximas.

La medición de la velocidad de ejecución en ejercicios realizados ante cargas ligeras y pesadas podría ser una solución viable para evaluar la capacidad de los músculos para generar fuerza a altas y bajas velocidades, respectivamente [7,8]. Estudios previos han utilizado tanto el PB sólo-concéntrico como el PB excéntrico-concéntrico para evaluar la velocidad de movimiento ante diferentes cargas [5,9,10]. Sin embargo, una pregunta que sigue sin respuesta es que variante del ejercicio de PB permite obtener los valores de velocidad con una mayor fiabilidad. Pallarés et al. [10] reveló que la introducción de una pausa entre las fases descendente y ascendente de la barra (PB sólo-concéntrico) incrementó la fiabilidad de la medición de la velocidad de ejecución en comparación con el PB excéntrico-concéntrico. Sin embargo, García-Ramos et al. [7] reportó una mayor fiabilidad de la velocidad de

ejecución para el PB excéntrico-concéntrico en comparación con el PB sólo-concéntrico. La principal diferencia encontrada entre estos estudios fue la instrucción proporcionada a los participantes respecto a la ejecución de la fase descendente de la barra en la modalidad de PB excéntrico-concéntrico. Mientras que Pallarés et al. [10] controló la duración de la fase descendente de la barra a través de un metrónomo, García-Ramos et al. [7] instruyó a sus participantes a realizar la fase descendente a una alta velocidad. Por tanto, para arrojar luz en este aspecto, la fiabilidad de la velocidad de ejecución debe ser comparada en un mismo estudio cuando se instruye a los participantes a realizar la fase descendente del movimiento a una velocidad alta (PB excéntrico-rápido) o controlada de forma externa (PB excéntrico-controlado)

La literatura científica sugiere que la fiabilidad de la evaluación de la fuerza depende de la experiencia de los participantes con los procedimientos de evaluación [11]. *Por ejemplo, para la obtención de manera fiable del 1 RM en el ejercicio de PB, en participantes sin experiencia, han sido necesarias un mínimo de 3 sesiones* [11,12]. *Un aspecto importante a evaluar es si la velocidad de ejecución podría obtenerse de forma fiable en participantes sin experiencia con el ejercicio de PB y las posibles diferencias en fiabilidad en participantes con una mayor experiencia con el ejercicio. En ese caso, se podría reducir el riesgo de lesión en comparación con un test tradicional de 1RM.*

Para dar respuestas a las lagunas existentes en la literatura científica, en el presente estudio evaluamos la velocidad de ejecución ante cargas submáximas en tres variantes del ejercicio de PB en hombres con y sin experiencia con el ejercicio de PB. El objetivo del presente estudio fue comparar la fiabilidad de la velocidad media propulsiva (VMP) entre tres variantes del ejercicio de PB (sólo-concéntrico, excéntrico-rápido y excéntrico-controlado) y entre participantes con y sin experiencia con el ejercicio de PB. Nuestra hipótesis fue que la variante de PB excéntrico-rápido proporcionaría la VMP con la mayor fiabilidad, y que la fiabilidad de la VMP sería mayor para los participantes con experiencia con el ejercicio de PB.

Materiales y Métodos

Participantes

Treinta varones físicamente activos participaron voluntariamente en el estudio. Los participantes fueron asignados a un grupo con experiencia en el ejercicio de PB (edad = $21,4 \pm 3,4$ años; altura = $1,72 \pm 0,04$ m; masa corporal = $75,9 \pm 8,6$ kg; 1RM en el ejercicio de PB sólo-concéntrico = $73,8 \pm 14,2$ kg; experiencia de entrenamiento con PB = $2,3 \pm 3,3$ años) o a un grupo sin experiencia con el ejercicio de PB (edad = $19,3 \pm 1,3$ años; altura = $1,74 \pm 0,08$ m; masa corporal = $70,1 \pm 6,8$ kg; 1RM en el ejercicio de PB sólo-concéntrico = $56,8 \pm 5,9$ kg) (media \pm desviación típica). Los participantes incluidos en el grupo sin experiencia no habían realizado nunca el ejercicio de PB con anterioridad al inicio del presente estudio, mientras que para ser incluidos en el grupo con experiencia los participantes tuvieron que incluir el ejercicio de PB en sus entrenamientos por más de 1 año. Ningún participante presentó ningún dolor o lesión que pudiera comprometer su rendimiento en el ejercicio de PB. Los participantes fueron informados de todos los procedimientos y posibles riesgos asociados con el estudio antes de proporcionar por escrito su consentimiento informado para participar en el estudio. El protocolo del estudio fue realizado acorde a la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de ética de la Universidad de Granada.

Diseño del estudio

Un diseño de medidas repetidas fue utilizado para comparar la fiabilidad de la velocidad media propulsiva (VMP) entre diferentes variantes del ejercicio de PB y entre participantes con y sin experiencia con el ejercicio de PB. Los participantes realizaron durante dos semanas consecutivas cuatro sesiones que estuvieron separadas por un mínimo de 48 horas. La 1RM en el ejercicio de PB sólo-concéntrico fue determinado en la primera sesión de evaluación a través de un test de carga incremental siguiendo el protocolo descrito por García-Ramos et al. [9]. Las otras tres sesiones de evaluación consistieron en realizar una única variante del ejercicio de PB (sólo-concéntrico,

excéntrico-rápido, excéntrico-controlado) ante tres cargas (grupo con experiencia: carga ligera = $20,0$ kg [$28,8 \pm 5,9$ %1RM]; carga intermedia = $37,1 \pm 5,4$ kg [$51,9 \pm 3,0$ %1RM]; carga pesada = $54,2 \pm 10,9$ kg [75 %1RM]); grupo sin experiencia: carga ligera = $20,0$ kg [$36,7 \pm 3,6$ %1RM]; carga intermedia = $30,6 \pm 2,1$ kg [$55,8 \pm 1,8$ %1RM]; carga pesada = $41,3 \pm 4,3$ kg [75 %1RM]). Las mismas cargas absolutas fueron utilizadas en las tres sesiones para cada participante. Las variantes del ejercicio de PB y las cargas fueron administradas en un orden aleatorizado. *No se realizó ninguna sesión de familiarización porque estábamos interesados en conocer la fiabilidad de la velocidad de ejecución en el ejercicio de press de banca realizado con cargas submáximas en sujetos sin ninguna experiencia previa con el ejercicio.*

Procedimientos

Todas las evaluaciones se realizaron en el Laboratorio de Evaluación del Movimiento Natural Controlado de la Universidad Católica de la Santísima Concepción (Chile). Todas las sesiones comenzaron con un calentamiento estandarizado consistente en 5 minutos de carrera a baja intensidad y 5 minutos de estiramientos dinámicos de la musculatura involucrada en el ejercicio de PB. A continuación, los participantes realizaron tres series de calentamiento específico usando la variante de PB evaluada en esa sesión: 10 repeticiones con la barra descargada del pórtico guiado (20 kg), 5 repeticiones con el 50%1RM y 3 repeticiones con el 75%1RM. Finalmente, los participantes realizaron 3 repeticiones con cada una de las tres cargas evaluadas. Se implementaron descansos de 1 y 3 minutos entre repeticiones realizadas con la misma y distinta carga, respectivamente. Un evaluador experimentado supervisó todas las repeticiones e instruyó a los participantes a realizar la fase ascendente del movimiento a la mayor velocidad posible. Se permitió a los participantes usar el ancho de agarre auto-preferido porque se ha demostrado que produce una alta fiabilidad de la medida [13].

El ejercicio de PB fue siempre realizado en un pórtico guiado (Fittech Smith Machine,

Taiwan, China) que restringió el desplazamiento de la barra en una dirección vertical. Un transductor lineal de velocidad (T-Force System, Ergotech, Murcia, Spain) fue enganchado a la barra del pórtico guiado y registró los datos de velocidad y tiempo a una frecuencia de 1 kHz. La VMP, que es la velocidad media desde el inicio de fase ascendente de la barra hasta que la aceleración de la barra es menor que la aceleración de la gravedad [14], fue usada en el presente estudio. De las tres repeticiones realizadas con cada variante de PB sólo usamos las dos repeticiones con una menor variabilidad en la VMP para los análisis de fiabilidad. Las características de las tres modalidades de PB evaluadas en el estudio se describen a continuación:

- *PB sólo-concéntrico*: Los participantes iniciaron el ejercicio con los brazos completamente extendidos. A continuación bajaron la barra a una velocidad controlada hasta que hizo contacto con su pecho, la barra permaneció estática en contacto con el pecho durante dos segundos, y luego realizaron la fase ascendente del ejercicio a la mayor velocidad posible.

- *PB excéntrico-rápido*: Los participantes iniciaron el ejercicio con los brazos completamente extendidos. A continuación, fueron instruidos a realizar la fase descendente a una alta velocidad hasta que la barra contactó con el pecho, e inmediatamente después realizaron la fase ascendente del ejercicio a la mayor velocidad posible.

- *PB excéntrico-controlado*: Los participantes iniciaron el ejercicio con los brazos completamente extendidos. Los participantes fueron instruidos a realizar la fase descendente del ejercicio a través de un movimiento controlado de 1,5 segundos (controlada con un metrónomo) hasta que la barra contactaba con el pecho, e inmediatamente después realizaron la fase ascendente del ejercicio a la mayor velocidad posible.

Análisis estadísticos

Los valores descriptivos son presentados como media y desviación típica. La fiabilidad fue calculada a través del error estándar de la medida, coeficiente de variación (CV),

coeficiente de correlación intraclass (CCI; modelo 3,1), y los correspondientes intervalos de confianza al 95%. El siguiente criterio fue utilizado para determinar una fiabilidad aceptable ($CV \leq 10\%$, $CCI \geq 0,80$) o alta ($CV \leq 5\%$, $CCI \geq 0,90$) [15]. El ratio entre dos CVs (siempre usamos como numerador el CV más alto) fue usado para comparar la fiabilidad entre las variantes de PB y entre los grupos con diferente experiencia en el ejercicio de PB. El menor ratio de importancia fue establecido en 1,15 [16]. El análisis de fiabilidad fue realizado a través de una hoja de Excel personalizada [17]. La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

Resultados

La fiabilidad fue generalmente alta para ambos grupos independientemente de la carga y variante de PB considerada (Tabla 1). La comparativa de los CV entre las variantes de PB revelaron una fiabilidad significativamente superior para las variantes de PB sólo-concéntrico y excéntrico-rápido en comparación con la variante de PB excéntrico-controlado, mientras que no existieron diferencias significativas en fiabilidad entre las variantes de PB sólo-concéntrico y excéntrico-rápido (Figura 1). No se observaron diferencias sistemáticas en la fiabilidad entre participantes con y sin experiencia en el ejercicio de PB. Específicamente, los participantes con experiencia obtuvieron una mayor fiabilidad en 3 de 9 comparaciones (carga ligera sólo-concéntrico [CV ratio = 1,25], carga ligera excéntrico-rápido [CV ratio = 2,85] y carga pesada excéntrico-controlado [CV ratio = 1,17]), los participantes sin experiencia obtuvieron una mayor fiabilidad en 3 de 9 comparaciones (carga intermedia sólo-concéntrico [CV ratio = 1,83], carga intermedia excéntrico-controlado [CV ratio = 1,29] y carga pesada sólo-concéntrico [CV ratio = 1,45]), y finalmente no se observaron diferencias significativas en las tres comparaciones restantes (carga ligera excéntrico controlado [CV ratio = 1,05], carga intermedia excéntrico-rápido [CV ratio = 1,02] y carga pesada excéntrico-rápido [CV ratio = 1,06]).

Discusión

Este estudio fue diseñado para comparar la fiabilidad de la VMP entre diferentes variantes del ejercicio de PB en participantes con y sin experiencia con el ejercicio. Los principales hallazgos de la investigación revelaron (I) una

alta fiabilidad independientemente de la modalidad de PB y carga utilizada, (II) una mayor fiabilidad para las variantes de PB sólo-concéntrico y excéntrico-rápido en comparación con la variante de PB excéntrico-controlado, y (III) una fiabilidad similar para los participantes con y sin experiencia en el ejercicio de PB.

Carga	Variante PB	CON experiencia (n = 15)			SIN experiencia (n = 15)		
		Media ± DS (m·s ⁻¹)	CV% (95% IC)	CCI (95% IC)	Media ± DS (m·s ⁻¹)	CV% (95% IC)	CCI (95% IC)
Ligera	Sólo-concéntrico	1,22 ± 0,10	3,77 (2,76, 5,95)	0,83 (0,56, 0,94)	1,09 ± 0,10	4,70 (3,44, 7,40)**	0,76 (0,43, 0,91)
	Excéntrico-rápido	1,38 ± 0,15	1,83 (1,34, 2,88)	0,98 (0,93, 0,99)	1,27 ± 0,12	5,21 (3,81, 8,22)**	0,74 (0,39, 0,91)
	Excéntrico-controlado	1,25 ± 0,22	5,12 (3,75, 8,08)	0,93 (0,80, 0,98)	1,09 ± 0,13	5,37 (3,93, 8,46)	0,83 (0,57, 0,94)
Intermedia	Sólo-concéntrico	0,87 ± 0,08	3,86 (2,83, 6,09)	0,86 (0,62, 0,95)	0,80 ± 0,09	2,11 (1,54, 3,32)*	0,97 (0,92, 0,99)
	Excéntrico-rápido	0,97 ± 0,12	3,50 (2,56, 5,52)	0,93 (0,79, 0,97)	0,92 ± 0,11	3,43 (2,51, 5,41)	0,92 (0,79, 0,97)
	Excéntrico-controlado	0,92 ± 0,13	5,76 (4,22, 9,08)	0,86 (0,64, 0,95)	0,83 ± 0,13	4,45 (3,26, 7,01)*	0,93 (0,82, 0,98)
Pesada	Sólo-concéntrico	0,59 ± 0,08	3,97 (2,91, 6,27)	0,93 (0,80, 0,97)	0,53 ± 0,08	2,74 (2,01, 4,33)*	0,97 (0,91, 0,99)
	Excéntrico-rápido	0,71 ± 0,08	3,11 (2,28, 4,90)	0,94 (0,83, 0,98)	0,66 ± 0,08	3,29 (2,41, 5,19)	0,94 (0,84, 0,98)
	Excéntrico-controlado	0,65 ± 0,11	3,96 (2,90, 6,25)	0,95 (0,87, 0,98)	0,57 ± 0,10	4,65 (3,41, 7,34)**	0,93 (0,82, 0,98)

PB, press de banca; DS, desviación estándar; CV, coeficiente de variación; CCI, coeficiente de correlación intraclase; 95% IC, intervalo de confianza al 95%. Más (*) o menos (**) fiable que el grupo CON experiencia (CV ratio > 1,15).

Tabla 1. Fiabilidad de la velocidad media propulsiva obtenida ante diferentes cargas en tres modalidades del ejercicio de press de banca.

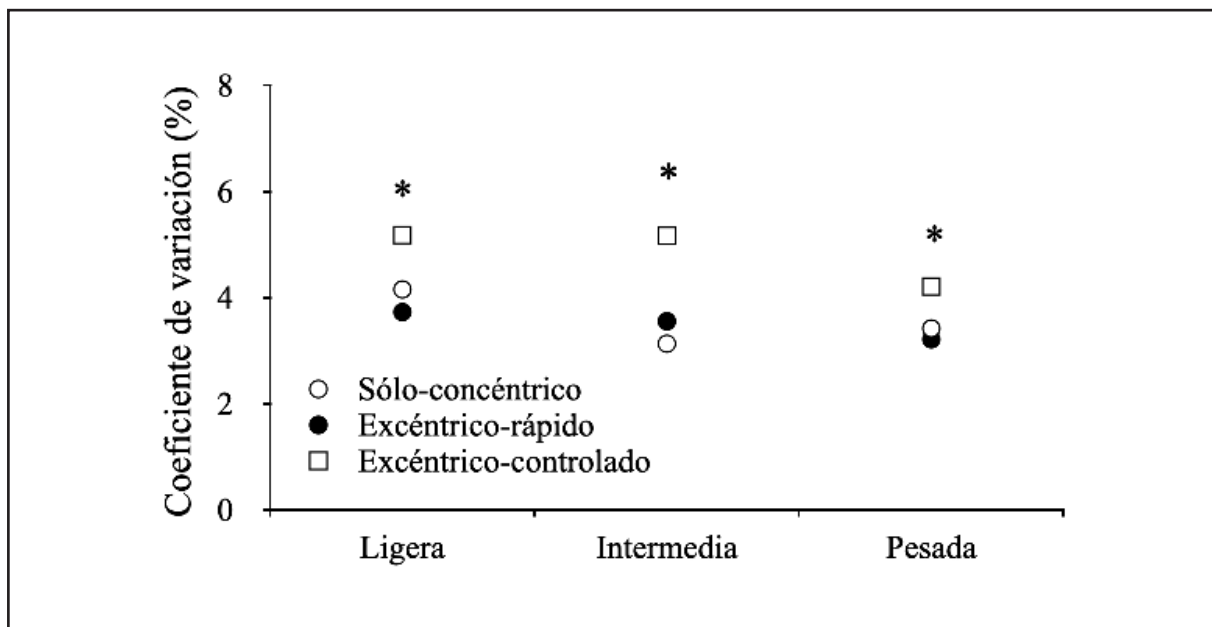


Figura 1. Comparación del coeficiente de variación (CV) entre las diferentes modalidades de press de banca. *, Excéntrico-controlado significativamente menos fiables que sólo-concéntrico y excéntrico-concéntrico. No se observaron diferencias significativas entre sólo-concéntrico y excéntrico-concéntrico. Diferencias significativas entre dos CVs se establecieron cuando el CV ratio fue mayor que 1,15.

Estos resultados apoyan el uso de las modalidades de PB sólo-concéntrico y excéntrico-rápido para evaluar la fuerza de los miembros superiores a través de la medición de la velocidad de ejecución, incluso en participantes sin experiencia con el ejercicio de PB.

Una alta fiabilidad es indispensable para ser capaz de discriminar cambios reales en el rendimiento respecto a la inherente variabilidad en el rendimiento entre días [18]. Aunque todas las variantes de PB evaluadas en el presente estudio proporcionaron la VMP con una alta fiabilidad, las variantes de PB sólo-concéntrico y excéntrico-rápido demostraron una mayor fiabilidad que la variante de PB excéntrico-controlado. Estos resultados concuerdan con los presentados por Pallares et al. [10] quienes reportaron una mayor fiabilidad para el PB sólo-concéntrico en comparación con el PB excéntrico-controlado. Sin embargo, aunque García-Ramos et al. [7] reveló una mayor fiabilidad para el PB excéntrico-rápido en comparación con el PB sólo-concéntrico, no se observaron diferencias significativas en fiabilidad entre ambas variantes del PB en el presente estudio. Por lo tanto, la literatura científica actual no apoya la afirmación de que la inclusión del ciclo estiramiento-acortamiento incrementa la variabilidad de la medida a no ser que se realice de forma controlada por una fuente externa. Además de su menor fiabilidad, otra razón para no utilizar el PB excéntrico-controlado es su poca especificidad con la mayoría de las acciones deportivas en las que no se controla de forma externa la velocidad de la fase descendiente del movimiento. El PB excéntrico-rápido podría recomendarse por su alta fiabilidad y también por su simplicidad y similitud con la mayoría de las acciones deportivas en las que se realizan rápidos ciclos de estiramiento-acortamiento.

El mayor rendimiento de los participantes experimentados quedó evidenciado por su mayor rendimiento tanto en el valor de 1RM como en la velocidad alcanzada ante la carga de 20 kg. También, se formuló la hipótesis de que los participantes experimentados mostrarían una mayor fiabilidad en la medición de la velocidad de ejecución, pero esa hipótesis fue rechazada. En tres de nueve comparaciones la

fiabilidad fue mayor para los participantes con experiencia, en otras tres ocasiones la fiabilidad fue mayor para los participantes sin experiencia, y en otras tres comparaciones no existieron diferencias entre ambos grupos. Por lo tanto, la medición de la velocidad de ejecución debe ser recomendada especialmente para evaluar a individuos con poca experiencia en el ejercicio de PB porque esta variable no parece verse afectada por el nivel de experiencia con el ejercicio de PB a diferencia de otras variables como el 1RM [11,12]. Por ejemplo, Ribero et al. [19] reveló que al menos dos sesiones de evaluación fueron necesarias para obtener valores estables de la 1RM en participantes sin experiencia, mientras que Cronin et al. [20] encontró incrementos en la 1RM durante cuatro sesiones sucesivas en hombres inexpertos, lo que pone de manifiesto la importancia de la familiarización para obtener una medida reproducible de la 1RM. Sin embargo, los resultados del presente estudio revelan que, independientemente del nivel de experiencia de los participantes con el ejercicio de PB, la fuerza muscular de los miembros superiores puede evaluarse con una alta fiabilidad a través de la medición de la velocidad de ejecución en el ejercicio de PB realizado en un pódico guiado ante cargas submáximas.

La principal limitación del presente estudio fue el uso de un pódico guiado. Aunque es cierto que los pódticos guiados son usados comúnmente en estudios científicos con la intención de incrementar la reproducibilidad de las variables mecánicas al restringir el movimiento a una dirección estrictamente vertical, el uso del pódico guiado podría explicar la ausencia de diferencias en fiabilidad entre los participantes con y sin experiencia. Es posible que los participantes con experiencia muestren una mayor reproducibilidad si el ejercicio se realiza con peso libre debido a la mayor complejidad técnica del ejercicio. Por lo tanto, es importante que estudios futuros investiguen si el uso de peso libre puede disminuir la fiabilidad en la medición de la velocidad de ejecución en mayor medida para participantes sin experiencia que en participantes con experiencia. Finalmente, otra limitación fue que el test de carga incremental utilizado para

asignar las cargas en las sesiones experimentales solo fue realizado con la variante de PB sólo-concéntrico y por tanto es posible que los participantes se ejercitaran ante cargas relativas (%1RM) ligeramente diferentes para cada variante del PB. *Sin embargo, decidimos usar siempre las mismas cargas absolutas para comparar la magnitud de las variables de velocidad entre las 3 variantes de BP y escogimos el PB sólo-concéntrico porque se espera que esta variante produzca la 1RM más baja.*

Conclusión

Los resultados del presente estudio ponen de manifiesto que, independientemente del nivel de experiencia de los participantes con el ejercicio de PB, la fuerza muscular de los miembros superiores puede evaluarse con una alta fiabilidad a través de la medición de la velocidad de ejecución ante cargas submáximas en distintas variantes del ejercicio de PB. Sin embargo, la variante de PB excéntrico-controlado no debe recomendarse ya que presenta una menor fiabilidad y no tiene similitud con la mayoría de las acciones deportivas en las que no se controla externamente la velocidad de la fase descendente. El PB excéntrico-rápido podría recomendarse debido a que es la acción más habitual en la mayoría de las acciones deportivas, pero quizás el PB sólo-concéntrico pueda ser más apropiado en determinados grupos de atletas (ej., powerlifters) debido a su mayor similitud con lo realizado en competición.

Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a todos los participantes de esta investigación por su predisposición y compromiso a dar su máximo esfuerzo en todas las sesiones de evaluación.

Bibliografía

1. **Ratamess NA, Alvar BA, Evetoch TK, Housch TJ, Kibler WB, Kraemer WJ, et al.** American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41:687–708.
2. **Suchomel TJ, Nimphius S, Stone MH.** The importance of muscular strength in athletic performance. *Sports Med* 2016;46:1419–1449.
3. **Haff GG, Newton RU, Sheppard JM.** Reliability of a novel testing protocol to assess upper body strength qualities in elite athletes. *Int J Sports Physiol Perform* 2014;9:871–875.
4. **Frost DM, Cronin JB, Newton RU.** A comparison of the kinematics, kinetics and muscle activity between pneumatic and free weight resistance. *Eur J Appl Physiol* 2008;104:937–956.
5. **Pérez-Castilla A, Comfort P, McMahon J, Pestaña-Melero F, García-Ramos A.** Comparison of the force-, velocity- and power-time curves between the concentric-only and eccentric-concentric bench press exercises. *J Strength Cond Res; In press.*
6. **Newton R, Murphy A, Humphries B, Wilson G, Kraemer W, Häkkinen K.** Influence of load and stretch shortening cycle on the kinematics, kinetics and muscle activation that occurs during explosive upper-body movements. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1997;75:333–342.
7. **García-Ramos A, Jimenez-Reyes P, Haff G, Pérez-Castilla A.** Assessment of upper-body ballistic performance through the bench press throw exercise: Which velocity outcome provides the highest reliability? *J Strength Cond Res* 2018;32: 2701–2707.
8. **Djuric S, Cuk I, Sreckovic S, Mirkov D, Nedeljkovic A, Jaric S.** Selective effects of training against weight and inertia on muscle mechanical properties. *Int J Sports Physiol Perform* 2016;11:927–932.
9. **García-Ramos A, Pestaña-Melero FL, Pérez-Castilla A, Rojas FJ, Haff GG.** Differences in the load-velocity profile between 4 bench-press variants. *Int J Sports Physiol Perform* 2018;13:326–331.
10. **Pallarés JG, Sánchez-Medina L, Pérez CE, De La Cruz-Sánchez E, Mora-Rodríguez R.** Imposing a pause between the eccentric and concentric phases increases the reliability of isoinertial strength assessments. *J Sports Sci* 2014;32:1165–1175.
11. **Ritti-Dias RM, Avelar A, Salvador EP, Cyrino ES.** Influence of previous experience on resistance training on reliability of one-repetition maximum test. *J Strength Cond Res* 2011;25:1418–1422.
12. **Phillips WT, Batterham AM, Valenzuela JE, Burkett LN.** Reliability of maximal strength testing in older adults. *Arch Phys Med Rehabil* 2004;85:329–334.
13. **Perez-Castilla A, Martinez-Garcia D, Jerez-Mayorga D, Rodriguez-Perea A, Chiroso-Rios LJ, Garcia-Ramos A.** Influence of the grip width on

the reliability and magnitude of different velocity variables during the bench press exercise. *Eur J Sport Sci*. In press.

14. **Sanchez-Medina L, Perez CE, Gonzalez-Badillo JJ.** Importance of the propulsive phase in strength assessment. *Int J Sports Med* 2010;31:123–129.
15. **James LP, Roberts LA, Haff GG, Kelly VG, Beckman EM.** Validity and reliability of a portable isometric mid-thigh clean pull. *J Strength Cond Res*. 2017;31:1378–1386.
16. **Fulton SK, Pyne D, Hopkins W, Burkett B.** Variability and progression in competitive performance of Paralympic swimmers. *J Sports Sci* 2009;27:535–539.
17. **Hopkins W.** Calculations for reliability (Excel spreadsheet) [Internet]. *A New View of Statistics*. 2000. Available from: <http://www.sportsci.org/resource/stats/relycalc.html%7B#%7Dexcel>
18. **Hopkins W.** Measures of reliability in sports medicine and science. *SportS Med* 2000;30:1–15.
19. **Ribeiro AS, Do Nascimento MA, Salvador EP, Gurjão ALD, Avelar A, Ritti-Dias RM, et al.** Reliability of one-repetition maximum test in untrained young adult men and women. *Isokinet Exerc Sci* 2014;22:175–182.
20. **Cronin JB, Henderson ME.** Maximal strength and power assessment in novice weight trainers. *J Strength Cond Res*. 2004;18:48–52.

Comparación de la sentadilla con salto usando máquina Smith y masa libre / A comparison of jump squats using Smith machine and free weight

M. Gutiérrez-Dávila, D. Marcos-Frutos, D. Morato, L. Morata, J. Manrique, C. Gutiérrez-Cruz
Departamento de Educación Física y Deportiva. Universidad de Granada

Resumen

El objeto de este estudio ha sido comparar las fuerzas de reacción, la potencia y la cinemática del centro de masas (CM) durante la ejecución de sentadilla con salto utilizando la máquina Smith (SM) y el peso libre (FW). Han participado 24 deportistas con experiencia en actividades de saltos y entrenamientos con cargas. Además de una máquina Smith, se ha utilizado una plataforma de fuerza Dinascan/IBV, a 500 Hz. Después de obtener la máxima carga para cada participante (IRM), se registraron las componentes de la fuerza de reacción (FR(X) y FR(Y)) en tres niveles de carga, con respecto a su correspondiente IRM (30%, 50% y 70%). La cinemática del CM se obtuvo a partir de la integración de la función aceleración-tiempo después de dividir la fuerza neta (FN) por la masa del sistema (m). A partir del análisis temporal y de las fuerzas de reacción se sugiere que la situación FW sería más adecuada para buscar una aproximación real a la competición, siendo un movimiento que produce un mayor control postural. La situación SM reduce el tiempo de ejecución e incrementa el impulso desarrollado durante la fase propulsiva.

Palabras clave: máquina Smith, peso libre, sentadilla con salto, plataforma de fuerzas

Abstract

The purpose of this study was to compare the reaction forces, power and the kinematics of the center of mass (CM) during the performance of jump squats using the Smith machine (SM) and the free weight (FW). In this study participated twenty-four athletes with experience in jumping activities and training with loads. In addition to a Smith machine, a Dinascan / IBV force platform has been used at 500 Hz. After obtaining the maximum load for each participant (IRM), the components of the reaction force (FR (X) and FR (Y)) were recorded in three load levels, with respect to their corresponding IRM (30 %, 50% and 70%). The kinematics of the CM was obtained from the integration of the acceleration with respect to time after dividing the net force (FN) by the mass of the system (m). From the analysis of the performance times and the reaction forces, it is suggested that the FW situation would be more suitable to look for a real approach to the competition, being a movement that produces a greater postural control. The SM situation reduces the execution time and increases the momentum developed during the propulsive phase.

Keywords: Smith machine, free weight, jump squats, force platform

Correspondencia: Marcos Gutiérrez Dávila

Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Granada. Departamento de Educación Física

Ctra. Alfacar s/n 18011- Granada, (España)

Tf. 958244367 - marcosgd@ugr.es

Introducción

El entrenamiento de fuerza ha dejado de ser una actividad específica de culturistas y halterófilos para convertirse en una de las formas más populares orientada hacia el entrenamiento deportivo, la salud o la estética corporal. Algunos de los ejercicios utilizados para el desarrollo de la fuerza requieren el desplazamiento de una masa externa usando la combinación de diferentes grupos musculares, como son el press de banca o la sentadilla con todas sus variantes. Todos ellos son ejercicios complejos que requieren un control y ejecución técnica muy precisa para aumentar su eficacia y evitar el riesgo de lesiones, especialmente con el incremento de las cargas. Para aumentar la seguridad y el control del desplazamiento de las cargas suele utilizarse la máquina Smith, que consiste en dos bastidores verticales fijos que actúan como guía restringiendo el movimiento de la carga en el plano frontal, además de facilitar el uso de sistemas de registro y permitir un bloqueo de seguridad durante el movimiento [1]. Dichas ventajas han provocado su uso generalizado para el entrenamiento y control de la fuerza.

A partir de la incorporación de estas máquinas se han considerado dos modalidades del entrenamiento de fuerza y potencia de las extremidades inferiores, especialmente cuando se realizan sentadillas o saltos donde se requiere desplazar cargas importantes sobre los hombros: a) *Peso libre* (FW), donde se requiere un cierto control del equilibrio al estar libre los tres planos de movimiento y b) *Máquina Smith* (SM), donde se mantiene un patrón de movimiento con rango definido y una trayectoria de la carga limitada en el plano frontal [2,3]. Aunque el movimiento es similar para las dos modalidades de ejecución, cada una de ellas tiene características concretas y usos diferenciados según las necesidades del entrenamiento o la capacidad de los deportistas [4,5].

La sentadilla con salto usando FW es similar al movimiento natural, requiriendo un mayor esfuerzo muscular para mantener la posición, por lo que suele ser utilizado por deportistas expertos [6,3]. Sin embargo, debido a la mayor seguridad que confiere la sentadi-

lla usando SM, esta suele utilizarse para la rehabilitación, los entrenamientos de personas con escasa experiencia o para la evaluación de la potencia en una amplia gama de deportistas, así como en programas de entrenamiento donde se busca la fatiga máxima [3,7,8,9]. Como se ha puesto de manifiesto, las dos modalidades de sentadilla podrían ser utilizadas en distintos programas de entrenamiento de fuerza, aunque es necesario considerar que los valores de referencia para seleccionar las cargas podrían ser diferentes.

Son escasas y contradictorias las investigaciones donde se compara las dos formas de ejecutar la sentadilla con salto (FW y SM). Mientras que Cotterman y col [3] y Luebbers y Fry [5], constataron un incremento de la carga en el test de repetición máxima (1RM) cuando se utiliza SM, Sheppard, Doyle y Taylor [10], utilizando plataformas de fuerza, no pudieron constatar diferencias estadísticamente significativas en la fuerza media y pico máximo con diferentes porcentajes de carga. Estos mismos autores, analizando la sentadilla con salto y cargas del 25% y 50% de su masa corporal en jugadores de voleibol, constataron una mayor potencia media cuando éstas se realizan con peso libre (FW) con respecto al uso de la máquina Smith (SM), sin que se encontraran diferencias estadísticamente significativas en el pico de potencia. Con respecto a la participación muscular, ciertas investigaciones constataron una mayor actividad muscular cuando se utilizaba FW en comparación a SM, siendo significativamente mayor la actividad de los músculos que estabilizan el tronco, el tibial anterior, bíceps femoral y el vasto medial, mientras que la actividad del vasto lateral se incrementa con el uso de la modalidad SM [11,12].

El objetivo de este estudio ha sido comparar las componentes de las fuerzas de reacción durante la ejecución de la sentadilla con salto utilizando la máquina Smith (SM) y el peso libre (FW), además de sus correspondientes efectos sobre la potencia, la velocidad y desplazamiento del centro de masa (CM). Teniendo en cuenta los antecedentes expuestos, consideramos como hipótesis que el uso de la máquina Smith incrementará la magnitud de la carga máxima soportada (1RM), el pico

máximo de las componentes vertical y horizontal de la fuerza, mientras que el tiempo de la fase propulsiva tenderá a reducirse.

Método

Aproximación experimental al problema

Para probar la hipótesis se ha utilizado un diseño de medidas repetidas donde cada participante realizó la sentadilla cargada con salto en las dos situaciones experimentales: a) utilizando el peso libre (FW) y b) con máquina Smith (SM). Dicha comparación se repitió con tres cargas diferentes con respecto a su correspondiente 1RM (30%, 50% y 70%), lo que permitió comprobar su efecto sobre las posibles diferencias entre las medias de las dos situaciones de salto (FW y SM), así como su efecto independiente en cada una de esas situaciones. Para ello, se han registrado las variables temporales del movimiento, las componentes de las fuerzas de reacción, la potencia y las variables cinemáticas del centro de masa (CM) que surgen a partir de la fuerza neta ejercida contra el suelo.

Participantes

Han participado 24 estudiantes de la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte: 7 mujeres (edad=21.3±3.1 años; talla= 1.68±0.03 m; masa= 57.0±7.9 kg; IMC= 20.2±2.3 kgm⁻²) y 17 hombres (edad=22.2±2.4 años; talla= 1.77±0.06 m; masa= 73.5±7.6 kg; IMC= 23.4±2.2 kgm⁻²), utilizando para su selección el criterio de haber participado en deportes donde el salto vertical constituye una habilidad básica y haber realizado de forma regular entrenamientos con cargas (voleibol, balonmano, saltos atléticos, etc). A todos los participantes se les informó y solicitó su consentimiento para participar en este estudio siguiendo las directrices de la Comisión Ética de la Universidad de Granada.

Material y procedimiento

Se ha utilizado una máquina Smith (Multipower Fitness Line, Peroga, Murcia, España) y una plataforma de fuerza de 0.6 x 0.37 m, (Dinascan/IBV), que registraba las fuerzas de reacción a una frecuencia de 500 Hz. Para el

control de la profundidad de la sentadilla se ha utilizado una valla con altura regulable, situada detrás del participante, cuya barra horizontal fue sustituida por un elástico que informaba por contacto cuando las articulaciones de las rodillas alcanzaban 90°.

Para la toma de datos, cada participante realizó cuatro sesiones, con un periodo mínimo entre ellas de 48 horas. Las dos primeras se dedicaron a la realización de los tests de sentadilla máxima (una sesión para cada condición: 1RM-FW y 1RM-SM), alternándose el orden para cada participante (debido al riesgo de lesión se realizó la sentadilla paralela convencional sin salto). Para ello, después de un calentamiento normalizado de quince minutos, los participantes se situaban en posición erguida con la barra sobre los hombros debiendo bajar a una velocidad autoseleccionada hasta tomar contacto con el elástico y subir de nuevo hasta la posición inicial. Se realizaron 10 repeticiones para adaptarse al ejercicio y estandarizar la posición y desplazamiento en la fase de contramovimiento. A continuación, siguiendo el protocolo establecido por Cotterman y col. [3], cada participante eligió la carga que considera poder levantar un mínimo de tres veces y un máximo de siete. Tras un calentamiento específico utilizando el 50% de esa carga, se realizaron 4 repeticiones con el 75% de la carga. Después de un descanso de 2-3 minutos, se realizaron dos repeticiones consecutivas con el 1RM. Tras cinco minutos de recuperación, se incrementó la carga entre 5 y 10 kg, lo que se repitió hasta alcanzar el fallo. La masa final levantada fue considerada la máxima carga para cada condición (1RM-FW y 1RM-SM).

En las dos sesiones siguientes se registraron las componentes horizontal y vertical de las fuerzas de reacción para las dos situaciones de sentadilla con salto en los tres niveles de carga, alternándose el orden en cada participante. Para las dos situaciones (FW y SM), los participantes recibieron las instrucciones de situarse erguidos sobre la plataforma de fuerza con la barra sobre los hombros y realizar un salto vertical máximo manteniendo la misma profundidad de contramovimiento que para el test de sentadilla máxima, lo que se controlaba con el elástico a la altura seleccionada. Antes

de comenzar las sesiones de registro, se realizó un proceso de aprendizaje del modelo de sentadilla con salto (con barra sobre los hombros sin carga), dando por concluido cuando se alcanzaba una cierta estabilidad en el tiempo de ejecución [13]. A continuación, siguiendo la metodología propuesta por Gutiérrez-Dávila, Dapena, and Campos [14], se registraron cinco saltos válidos para cada condición y carga, analizándose sólo el registro cuyo tiempo de ejecución era el mediano.

Análisis de datos

Para cada ensayo se determinó el posible error sistemático procedente de la plataforma de fuerzas a partir de las medias de la componente horizontal y vertical de la fuerza de reacción de 20 registros sucesivos tras el despegue del salto. Después de restar a cada componente de la fuerza de reacción el posible error sistemático y obtener la fuerza neta vertical ($FN_{(Y)}$) restando el peso del saltador más la carga (considerado como la línea base de la componente vertical de la plataforma antes de iniciar el movimiento y después de eliminar el error sistemático), se calcularon las componentes de la aceleración vertical y horizontal del CM a partir de su correspondiente fuerza neta y la masa registrada (FN/m) para cada condición y carga. Finalmente, los sucesivos

registros de las componentes de la velocidad y sus correspondientes posiciones del CM ($v_{(X)CM}$, $v_{(Y)CM}$ y X_{CM} , Y_{CM} , respectivamente), se determinaron mediante integración de las respectivas componentes de las funciones de aceleración y velocidad-tiempo, usando para ello el método trapezoidal con un incremento temporal de 0.002 s [14].

Según el procedimiento expuesto, los datos obtenidos para las componentes horizontales de la velocidad y las sucesivas posiciones del CM no corresponderían a valores reales en la situación SM, ya que gran parte de las fuerzas horizontales que se ejercen contra el suelo son contrarrestadas por las guías verticales de la máquina Smith. Para cada incremento se determinó la potencia mediante el producto de la fuerza neta y la velocidad resultante (para la situación SM sólo se ha considerado la componente vertical).

El análisis temporal de la sentadilla con salto se dividió en tres fases siguiendo la metodología propuesta por Feltner, Bishop y Perez, [15]: a) *Contramovimiento*, que comprende desde el inicio del movimiento hasta que la velocidad vertical del CM adquiere su valor más próximo a cero (t_{0Y}); b) *Propulsión*, que comprende un periodo temporal entre t_{0Y} y el instante en que la velocidad vertical del CM alcanza su máximo valor (t_{MV}) y c): *Fase pre-*

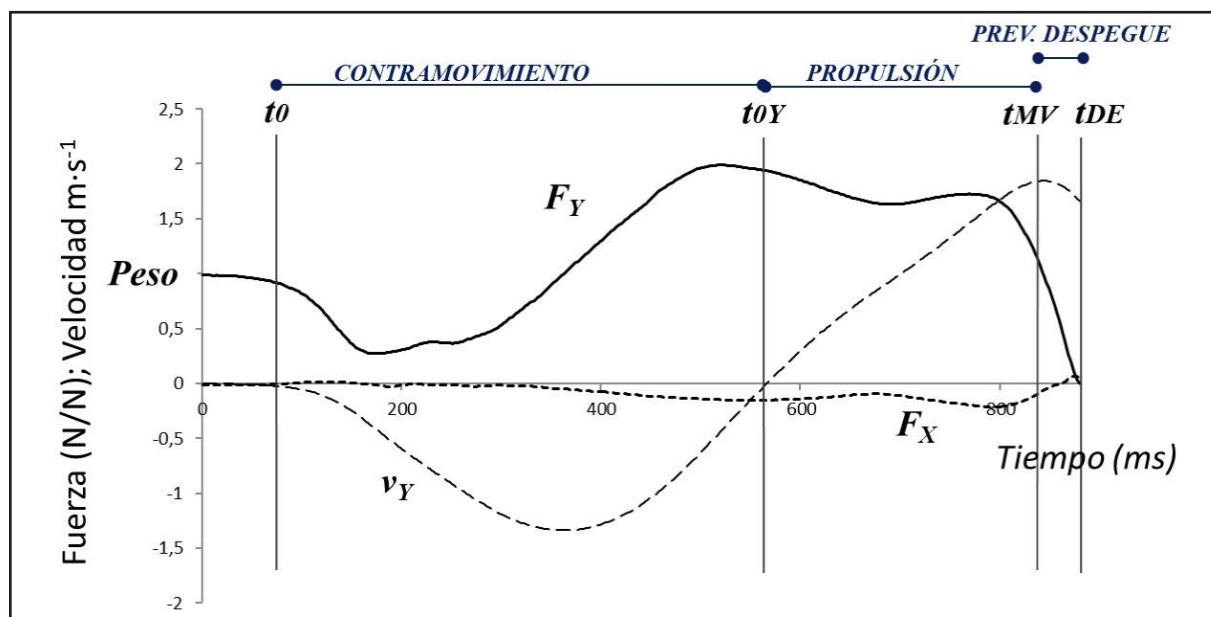


Figura 1. Análisis temporal de la sentadilla con salto correspondiente a uno de los participantes, donde la fuerza de reacción se expresa normalizada con respecto al peso del sistema.

via al despegue, comprendida entre t_{MV} y el instante de despegue (t_{DE}) (ver figura 1). El inicio del movimiento se consideró cuando la fuerza de reacción vertical experimentaba un cambio del 1% con respecto a los valores medios de reposo y el despegue coincidió cuando la fuerza de reacción vertical alcanzaba valores inferiores a ese mismo porcentaje.

Análisis estadístico

Para determinar el efecto de las dos situaciones experimentales (FW y SM) se ha aplicado una estadística descriptiva y para verificar las diferencias estadísticas entre las medias de las dos condiciones experimentales (FW y SM) se ha llevado a cabo un análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA).

Para evaluar la fiabilidad de las pruebas, se ha aplicado un análisis de varianza de medidas repetidas a todos los ensayos en las dos condiciones experimentales (cinco ensayos para cada condición y carga) tomando como variable dependiente el tiempo de ejecución del salto ($t_{SALTO(30\%)}$, $t_{SALTO(50\%)}$, $t_{SALTO(70\%)}$), sin que hayan existido diferencias significati-

vas entre los ensayos y sus respectivas situaciones experimentales. El coeficiente de correlación intraclase para estas mismas variables ha sido superior a 0.951 ($p < 0.001$) en las dos situaciones experimentales y cargas.

Resultados

En la tabla 1 se presentan los datos numéricos correspondientes a la máxima carga levantada (1RM) en las dos situaciones experimentales (FW y SM), constatándose que ésta ha sido significativamente mayor para SM ($p < 0.001$). En esta misma tabla se presenta los datos temporales de las tres fases en que se ha dividido el movimiento en las dos situaciones experimentales (FW y SM) y las tres cargas aplicadas (30%, 50% y 70% de su correspondiente 1RM). Sólo han existido diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de propulsión, siendo superior para la condición de peso libre (FW), aunque con diferentes niveles de significación según la carga aplicada ($p < 0.001$, para el nivel del 30% 1RM y $p < 0.05$ para el 50% y 70% 1RM).

<i>Variables</i>	<i>FW</i>	<i>SM</i>	<i>Diferencia entre medias</i>	<i>F</i>
1RM (kg)	92.1 ± 19.4	106.7 ± 24.2	-14.4 ± 7.8	27.03***
Tiempo contramovimiento (s)				
30% 1RM	0.725 ± 0.100	0.707 ± 0.139	0.018 ± 0.105	0.62
50% 1RM	0.815 ± 0.138	0.791 ± 0.122	0.023 ± 0.120	0.82
70% 1RM	0.942 ± 0.221	0.963 ± 0.179	-0.021 ± 0.184	0.29
Tiempo propulsión (s)				
30% 1RM	0.392 ± 0.054	0.355 ± 0.050	0.037 ± 0.037	22.88***
50% 1RM	0.473 ± 0.058	0.445 ± 0.087	0.028 ± 0.046	7.97*
70% 1RM	0.583 ± 0.096	0.552 ± 0.106	0.031 ± 0.068	4.64*
Tiempo previo al despegue (s)				
30% 1RM	0.040 ± 0.008	0.042 ± 0.008	0.002 ± 0.009	1.08
50% 1RM	0.052 ± 0.011	0.052 ± 0.010	-0.001 ± 0.011	0.09
70% 1RM	0.064 ± 0.014	0.067 ± 0.019	-0.003 ± 0.019	0.44
*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$				

Tabla 1. Estadística descriptiva e inferencial del 1RM en las dos situaciones experimentales (FW y SM). A continuación, se presenta la estadística sobre los periodos temporales en las dos situaciones experimentales cuando se utilizan cargas del 30%, 50% y 70% del 1RM.

En la tabla 2 se presentan la estadística descriptiva e inferencial para el pico máximo de fuerza de reacción registrada en las componentes vertical y horizontal (PMFR(Y) y PMFR(X), respectivamente) para las dos situaciones experimentales (FW y SM) y las tres cargas aplicadas (los valores negativos de la componente horizontal indican que el sentido de la fuerza de reacción se dirige hacia atrás con respecto a la posición del participante).

Los datos indican que PMFR(Y) se incrementa con el uso de la máquina Smith (SM) con respecto al peso libre (FW), aunque sólo se han obtenido diferencias estadísticamente significativas con los niveles de carga del 50 % 1RM ($p < 0.05$) y 70 % 1RM ($p < 0.01$). Con respecto a la componente horizontal (PMFR(X)), los datos de tendencia central indican que sus valores son negativos en las dos condiciones y cargas aplicadas, incrementándose sus valores negativos de forma muy significativa cuando se utiliza la situación SM para todos los por-

centajes de carga propuestos ($p < 0.001$). En la tabla 2 también se presenta una estadística descriptiva e inferencial del pico de potencia y la potencia media durante la fase propulsiva (PP-(PROPULSIÓN) y PM(PROPULSIÓN), respectivamente), sin que hayan existido diferencias estadísticamente significativas entre las medias de ambos registros para las dos situaciones propuestas (FW y SM).

En la tabla 3 se presenta la estadística sobre las variables cinemáticas del CM que surgen a partir de las fuerzas ejercidas contra el suelo en las dos situaciones de sentadilla con salto (FW y SM). Los datos indican que el máximo valor negativo de la velocidad vertical del CM durante la fase de contramovimiento ($v_{(Y)CG-MIN}$) tiende a incrementarse cuando se utiliza SM con respecto a FW ($p < 0.05$). Para ninguna de las tres cargas aplicadas han existido diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las dos situaciones de la velocidad vertical al final de la fase propulsiva ($v_{(Y)}$)

<i>Variables</i>	<i>FW</i>	<i>SM</i>	<i>Diferencia entre medias</i>	<i>F</i>
<i>Máxima fuerza de reacción vertical - PMFR(Y) - (N)</i>				
30% 1RM	1714 ± 259	1759 ± 264	-45 ± 110	3.57
50% 1RM	1855 ± 266	1918 ± 294	-63 ± 117	6.53*
70% 1RM	2005 ± 307	2113 ± 321	-107 ± 154	10.68***
<i>Máxima fuerza de reacción horizontal - PMFR(X) - (N)</i>				
30% 1RM	-152 ± 60	-222 ± 52	70 ± 43	59.10***
50% 1RM	-154 ± 59	-229 ± 58	76 ± 47	56.55***
70% 1RM	-118 ± 78	-200 ± 62	82 ± 70	0.71***
<i>Pico de potencia en la fase propulsiva - PP-(PROPULSIÓN) - (W)</i>				
30% 1RM	1174 ± 293	1204 ± 300	-29 ± 197	0.49
50% 1RM	1049 ± 295	1062 ± 255	-13 ± 180	0.12
70% 1RM	909 ± 257	932 ± 200	-23 ± 174	0.40
<i>Potencia media en la fase propulsiva - PM-(PROPULSIÓN) - (W)</i>				
30% 1RM	461 ± 118	478 ± 112	-17 ± 59	1.79
50% 1RM	361 ± 103	382 ± 98	-20 ± 71	1.87
70% 1RM	272 ± 95	296 ± 74	-24 ± 73	2.36
*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$				

Tabla 2. Media, desviación típica y nivel de significación entre las medias de las dos situaciones de sentadilla con salto (FW y SM) para las fuerzas de reacción y la potencia desarrollada durante la propulsión.

PROPULSIÓN). Existen claras diferencias entre las medias de las tres cargas aplicadas en las dos condiciones experimentales (FW y SM) para el desplazamiento horizontal del CM al final del contramovimiento y el despegue ($S(X)$ CONTRAMOVIMIENTO y $S(X)$ DESPEGUE, respectivamente) ($p < 0.001$). En las dos variables los valores medios son positivos para la situación FW y negativos en SM (es necesario recordar que los valores negativos indican que el desplazamiento se produciría hacia atrás con respecto a la posición inicial, aunque para la situación SM, se trata de valores teóricos al no considerarse las fuerzas horizontales que ejerce el pórtico vertical de la máquina Smith).

Discusión

En primer lugar, se observan las diferencias significativas ($p < 0.001$) entre las medias de las dos situaciones para el test de sentadilla máxima (1RM- ver tabla 1), lo que supone

un incremento del 10.4% de carga cuando se utiliza la máquina Smith con respecto al peso libre. Estos datos son coincidentes con los aportados por Cotterman y col. [3] y Luebers y Fry [5], aunque las diferencias reportadas por estos autores son sensiblemente inferiores a las obtenidas en este estudio (3.6% y 9.1%, respectivamente). En consecuencia, con el mismo porcentaje aplicado, la carga seleccionada para la situación SM siempre será mayor que la utilizada para la situación FW, lo que podría justificar el incremento de las diferencias entre las medias del pico de fuerza de reacción vertical ($PMFR(Y)$) cuando aumenta el porcentaje de carga (ver tabla 2). Es necesario considerar que las fuerzas de reacción tienen en cuenta el peso del participante más el correspondiente de la carga, lo que es razonable pensar que las diferencias entre las medias de las dos situaciones experimentales (FW y SM) sean mayores con porcentajes de cargas superiores.

<i>Variables</i>	<i>FW</i>	<i>SM</i>	<i>Diferencia entre medias</i>	<i>F</i>
<i>Máximo valor negativo de la $V(Y)$ en el contramovimiento - $v(Y)CG-MIN - (ms^{-1})$</i>				
30% 1RM	-0.99 ± 0.21	-1.08 ± 0.18	0.08 ± 0.16	6.09*
50% 1RM	-0.89 ± 0.14	-0.95 ± 0.11	0.05 ± 0.12	4.55*
70% 1RM	-0.77 ± 0.16	-0.82 ± 0.14	0.05 ± 0.10	6.05*
<i>Velocidad vertical del CM al final de la fase propulsiva - $v(Y)PROPULSIÓN - (ms^{-1})$</i>				
30% 1RM	1.83 ± 0.23	1.87 ± 0.21	-0.04 ± 0.28	0.44
50% 1RM	1.63 ± 0.24	1.69 ± 0.20	-0.06 ± 0.30	0.86
70% 1RM	1.48 ± 0.25	1.55 ± 0.26	-0.07 ± 0.35	0.96
<i>Desplazamiento horizontal en el contramovimiento - $S(X)CONTRAMOVIMIENTO - (m)$</i>				
30% 1RM	0.04 ± 0.02	-0.03 ± 0.04	0.07 ± 0.06	35.36***
50% 1RM	0.04 ± 0.02	-0.04 ± 0.06	0.08 ± 0.06	40.61***
70% 1RM	0.06 ± 0.03	-0.02 ± 0.09	0.07 ± 0.11	9.50**
<i>Desplazamiento horizontal del CM en el despegue- $S(X)DESPEGUE- (m)$</i>				
30% 1RM	0.12 ± 0.04	-0.19 ± 0.12	0.31 ± 0.14	30.31***
50% 1RM	0.13 ± 0.03	-0.20 ± 0.18	0.33 ± 0.19	37.31***
70% 1RM	0.15 ± 0.07	-0.19 ± 0.20	0.34 ± 0.21	15.59***
*** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$				

Tabla 3. Variables cinemáticas del CM en las dos situaciones de sentadilla con salto (FW y SM). La estadística se completa con el efecto independiente de la carga en las dos situaciones experimentales.

Posiblemente, el hallazgo más relevante de esta investigación haya sido comprobar que la utilización de las dos modalidades de sentadilla con salto (FW y SM) son movimientos diferentes que utilizan distintas estrategias de producción de fuerza, mientras que los datos relativos a su efecto son similares. Así, la velocidad vertical del CM al final de la propulsión ($v_{(Y) \text{ PROPULSIÓN}}$), el pico de potencia y la potencia media desarrollada durante la fase propulsiva (PP-(PROPULSIÓN) y PM-(PROPULSIÓN), respectivamente), no presentan diferencias estadísticamente significativas para las dos formas de ejecución en ninguna de las tres cargas aplicadas (30%, 50% y 70% 1RM).

La sentadilla con salto utilizando el peso libre (FW) se puede considerar como un movimiento de péndulo invertido cuyo CM gira hacia delante a través de un eje situado en el centro de presión (CP), que a su vez se desplaza hacia delante durante la fase propulsiva hasta el despegue. Sin embargo, con el uso de la máquina Smith, las fuerzas horizontales de reacción ejercidas por el suelo hacia atrás mantienen un apoyo constante de la carga sobre las guías verticales que limitan ese movimiento pendular CM hacia delante. De no existir ese apoyo, las fuerzas horizontales ejercidas por el suelo habrían provocado una situación clara de desequilibrio hacia atrás (ver tabla 3). Estos resultados son coherentes con las aportaciones de Gutierrez y Bahamonde [16], donde informan de un mayor rango de movimiento del tronco y las articulaciones de la cadera, rodilla y tobillo, cuando se utiliza FW con respecto a SM. Estas diferencias en los rangos de movimiento articular, como consecuencia del control postural durante el desplazamiento pendular del CM, coincidirían también con otras aportaciones [11,12], al constatar que la modalidad de peso libre produce una mayor actividad de la musculatura estabilizadora antero-posterior (A-P) (músculos del tronco y parte inferior de las piernas) en comparación con SM. Efectivamente, el movimiento pendular de rotación hacia delante del CM activaría un proceso automático de ajustes en el CP para conseguir mantener el equilibrio, además de las cocontracciones necesarias de la musculatura del tronco para mantener el CM

sobre la base de sustentación [17]. Un hecho que también tiene efecto sobre la tensión que soporta en el ligamento cruzado anterior con el desplazamiento del CM, como ponen de manifiesto Biscarini et al. [18].

Por otra parte, considerando que el desplazamiento vertical del CM estaba determinado según protocolo, el movimiento horizontal de péndulo invertido, utilizado en la modalidad FW, provocó que el espacio recorrido por el CM durante la propulsión fuese mayor con respecto a SM. La consecuencia fue un incremento temporal de la fase propulsiva (ver tabla 1). Este hecho permite considerar que la velocidad media resultante del CM durante la fase propulsiva sería similar para las dos formas de ejecutar la sentadilla con salto.

Los datos observados sugieren que la media de la velocidad vertical al final de la fase propulsiva ($v_{(Y) \text{ PROPULSIÓN}}$) es ligeramente superior para la situación SM, aunque no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ellas para ninguna de las cargas aplicadas. Las escasas diferencias entre las medias de $v_{(Y) \text{ PROPULSIÓN}}$ podrían sugerir que el resultado de la sentadilla con salto fue similar para las dos condiciones experimentales (FW y SM), lo que sería coherente con las aportaciones de Sheppard, Doyle y Taylor [10]. Sin embargo, los distintos valores de referencia para la selección de las tres cargas, permiten sugerir que este hecho no responde a la realidad. Es necesario considerar que la magnitud de $v_{(Y) \text{ PROPULSIÓN}}$ tuvo una relación directa con el impulso neto vertical desarrollado durante la fase propulsiva ($\int FN \cdot dt$) e inversa con la masa desplazada (m), la cual es un 10.4% mayor en la condición SM con respecto a FW, para todas las cargas. En consecuencia, las escasas diferencias entre las medias de $v_{(Y) \text{ PROPULSIÓN}}$ entre las dos condiciones, indica que el impulso de propulsión vertical ha sido mayor para la situación SM, produciéndose en menor tiempo y con mayor producción de fuerza vertical.

Un análisis similar podría hacerse con los datos estadísticos expuestos sobre el pico de potencia desarrollado durante la propulsión (PP-(PROPULSIÓN) y la potencia media (PM-(PROPULSIÓN)) donde, en todas las cargas apli-

cadras, sus registros fueron superiores cuando la sentadilla con salto se realiza utilizando la máquina Smith, aunque sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las dos situaciones (FW y SM). Para este análisis es necesario recordar que el cálculo fue diferente para cada situación. Para el cálculo de la potencia en la situación SM, se utilizó el producto de las componentes verticales fuerza neta y la velocidad del CM, mientras que para la situación FW se consideró el movimiento pendular hacia delante CM, obteniéndose la potencia mediante el producto de la resultante de la fuerza neta y la velocidad. De este modo, la magnitud de la potencia en la situación FW tiene el valor añadido de la componente horizontal.

La magnitud de los datos expuestos para los dos registros de potencia y las diferencias entre las medias de las dos condiciones para PM-(PROPULSIÓN), difieren de los datos reportados Sheppard y col. [10] para este mismo gesto. Consideramos que esas discrepancias residen en la metodología utilizada para el cálculo de la potencia. Partiendo de las aportaciones metodológicas expuestas por Dugan y col.[4] para el cálculo de la potencia, los datos aportados por Sheppard y col. [10], incorporan cambios metodológicos muy significativos respecto a este estudio: a) No han tenido en cuenta el movimiento horizontal de la masa para la situación FW, b) Incorporan el peso de la masa desplazada a la fuerza vertical utilizada para el cálculo, c) Para la determinación de la velocidad se utilizó un transductor de posición asociado a la barra y d) El valor de referencia para la selección de la carga fue la masa de los participantes. Las diferentes metodologías utilizadas para determinar la potencia en la sentadilla con salto constituyen una importante limitación para obtener teorías consistentes y una dificultad para el control del entrenamiento. Consideramos necesario un debate metodológico para establecer un consenso sobre los protocolos y cálculo de la potencia.

Como se esperaba, el incremento de la carga desplazada tiende a disminuir la potencia en las dos situaciones de sentadilla con salto, lo que es coherente con las aportaciones donde se pone de manifiesto que la carga optima

es el propio cuerpo y ésta se reduce con el incremento de las cargas [19,20,21].

Conclusiones y Aplicación Práctica

Los entrenamientos con cargas para el desarrollo la fuerza y potencia extensora de las extremidades inferiores, mediante la modalidad de peso libre (FW) o la máquina Smith (SM), deben utilizar valores de referencia diferentes para el cálculo de sus porcentajes. Dadas las claras diferencias encontradas en 1RM con el uso de las dos condiciones, los entrenadores deberían utilizar valores diferentes como referencia para calcular los porcentajes de carga.

Aunque aparentemente el movimiento de la sentadilla cargada con salto es similar para las dos modalidades (FW y SM), se constata que las estrategias de aplicación de la fuerza son diferentes. El control del equilibrio durante el movimiento de péndulo invertido característico de la modalidad de peso libre (FW), provoca cambios significativos en la aplicación de la componente horizontal de la fuerza con respecto a la modalidad SM. Estos cambios deberían tenerse en cuenta cuando se pretende transferir el entrenamiento a las situaciones coordinativas de los movimientos que se producen en situación real de competición.

La sentadilla con salto utilizando la máquina Smith reduce el tiempo de ejecución e incrementa el impulso desarrollado durante la fase propulsiva, con respecto a la modalidad de peso libre. Unos resultados que sugieren un cierto beneficio de esta modalidad cuando se busca desarrollar la fuerza a altas velocidades de contracción concéntrica de la musculatura extensora de las rodillas y cadera.

Quizás la mayor limitación del estudio haya sido el hecho de no haber podido registrar la fuerza de rozamiento que surge entre la barra y los bastidores verticales que actúan como guía en la máquina Smith. Dicha fuerza de rozamiento podría afectar a la velocidad de desplazamiento del CM, aunque dados los sistemas de engranaje utilizados y la alta inercia del sistema, no creemos que su magnitud pueda ser demasiado importante, aunque se trata de una fuerza que debería constarse empíricamente.

Bibliografía

1. **Arandjelovic, O.** Common variants of the resistance mechanism in the Smith machine: Analysis of mechanical loading characteristics and application to strength-oriented and hypertrophy-oriented training. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 2012; 26(2), 350–363. doi: 10.1519/JSC.0b013e318220e6d2
2. **Baechle, T.R. y Earle, R.W.** *Essential Strength Training and Conditioning*. Champaign, IL: Human Kinetics, 2000.
3. **Cotterman, M.L., Darby, L.A. y Skelly, W.A.** Comparison of muscle force production using the Smith machine and free weights for bench press and squat exercises. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 2005; 19(1), 169–176. doi: 10.1519/00124278-200502000-00029
4. **Dugan, E., Doyle, T., Humphries, B., Haddon C.J. y Newton, R.** Determining the optimal load for jump squats: A review of methods and calculations. *Journal of Strength & Conditioning Research* 18(3), 2004; 668–674. doi: 10.1519/00124278-200408000-00050
5. **Luebbers, P.E y Fry, A.C.** The Kansas squat test modality comparison: free weights vs. smith machine. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 2006; 30(8), 2186–2193. doi: 10.1519/JSC.0000000000001404
6. **Haff, G.G.** Roundtable Discussion: Machines Versus Free Weights. *Strength & Conditioning Journal*, 2000; 22(6), 18. Doi: 10.1519/00126548-200012000-00004
7. **Loturco I., Pereira L.A., Zanetti, V., Kitamura K., Cal-Abad C.C., Kobal R. y Nakamura F.Y.** Mechanical differences between Barbell and Body Optimum Power Loads in the Jump Squat Exercise. *Journal of Human Kinetics*, 2016; 54(1): 153–162. doi: 10.1515/hukin-2016-0044
8. **Perez-Castilla, A., García-Ramos, A, Padial, P, Morales-Artacho, J.A. and Feriche, B.** Effect of different velocity loss thresholds during a power-oriented resistance training program on the mechanical capacities of lower-body muscles. *J. Sports Sciences*, 2017; 36(12), 1331–1339. doi: 10.1080/02640414.2017.1376900
9. **Cavarretta, D.J., Walter R., Bixby WR. y Hall, EE.** Machines versus Free Weights: Does Exercise Mode Influence Affect and Perceived Exertion?. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2018; 50(5S), 315–316. doi: 10.1249/01.mss.0000536120.81293.49
10. **Sheppard, J.M., Doyle, T.L.A. y Taylor, K.L.** A methodological and performance comparison of free weight and smith-machine jump squats. *Journal of Australian Strength and Conditioning*, 2008; 16(2), 5–9.
11. **Anderson, K y Behm, D.G.** Trunk muscle activity increases with unstable squat movements. *Canadian Journal Applied Physiology*, 2005; 30(1), 33–45. doi: 10.1139/h05-103
12. **Schwanbeck, S., Chilibeck, P.D. y Binsted, G. A.** comparison of free weight squat to smith machine squat using electromyography. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 2009; 23(9), 2588–2592. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181b1b181
13. **Shmidt, R.A. and Lee, T.D.** *Motor Control and Learning*. Champaign: Human Kinetics, 2005. pp. 26–27.
14. **Gutiérrez-Dávila, M., Dapena, J. and Campos, J.** The effect of muscular pre-tensing on the sprint start. *Journal of Applied Biomechanics*, 2006; 22: 194–201.
15. **Felner, M.E., Bishop, E.J. y Perez, C.M.** Segmental and kinetic contributions in vertical jumps performed with and without an arm swing. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 2004; 75(3), 216–230. doi: 10.0080/02701367.2004.106009155
16. **Gutierrez, A y Bahamonde, R.** Kinematic Analysis of the Traditional Back Squat and Smith Machine Squat Exercises. Presented at XXVII International Conference of Biomechanics in Sports, University of Limerick, Limerick, Ireland, 2009.
17. **Gutiérrez-Dávila, M.** *Fundamentos de biomecánica aplicada*. Madrid: Síntesis, 2015; (p-115)
18. **Bascarini, A., Benvenuti, P, Botti, F, Mastrandrea, F. y Zanuso, Silvano.** Modelling the joint torques and loadings during squatting at the Smith machine. *Journal or Sports Sciences*, 2011; 29(5), 457–469. Doi:
19. **Cormie, P., McBride, J.M. y McCaulley, G.O.** Power-time, force-time, and velocity.time curve analysis during the jump squat: Impact of load. *Journal of Applied Biomechanics*, 2008; 24(2), 112–120. doi: 10.1123/jab.24.2.112
20. **Jaric S. y Markovic G.** Leg muscle design: the maximum dynamic output hypothesis. *Medicine & Science in Sports Exercise*, 2009; 41(4), 780–787. doi: 10.1249/MSS.0b013e31818f2bfa
21. **McBride, J.M., Tyler, J.K., Hainess, T.L. y Skinner, J.** Relationship between relative net vertical impulse and jump height in jump squats performed to various squat depths and with various loads. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 2010; 5(4), 484–496. doi: 10.1123/ijsp.5.4.484

The role of hyaluronic acid and versican in the skin extracellular matrix

Premio Accésit Congreso SIBB 2019

J. González-Rico^{1*}, C. Quílez¹, V. López², A. Muñoz-Barrutia¹, J. L. Jorcano^{1,2}, D. Velasco¹

¹Department of Bioengineering and Aerospace engineering, Universidad Carlos III de Madrid, Leganés (Madrid), Spain

²Regenerative Medicine Unit and Epithelial Biomedicine Division, CIEMAT, Madrid, Spain

Abstract

The extracellular matrix (ECM) is a structural network that comprises the bulk of the tissues. It acts as a supporting scaffold for the cells to develop their function and plays an active role in many processes such as proliferation and migration. Therefore, the ECM is an interesting object of study for regenerative medicine. In this article we make an extensive review of two key components of the ECM: the glycosaminoglycan Hyaluronic Acid (HA) and the proteoglycan Versican (Ver). These two molecules are present in the skin ECM and play active roles in processes such as differentiation, wound healing, hair follicle cycle and development. In our opinion, further biological insights in these two molecules and their interaction will be of great importance for skin tissue engineering applications.

Keywords: Extracellular matrix, Glycosaminoglycans, Proteoglycans, Hyaluronan, Versican

Resumen

La matriz extracelular (ECM, del inglés Extra-Cellular Matrix), es un entramado estructural que compone el grueso de los tejidos biológicos. Actúa como un andamiaje para el desarrollo de las células, y juega un papel activo en varios procesos biológicos tales como en la proliferación celular y la migración. Por ello, la matriz extracelular es un interesante objeto de estudio para la medicina regenerativa. En este artículo, realizaremos un análisis de dos componentes clave en la matriz extracelular: el glicosaminoglicano Ácido Hialurónico (HA, por sus siglas en inglés Hyaluronic Acid) y el proteoglicano Versicano (Ver). Estas dos moléculas están presentes en la matriz de la piel y toman roles activos en procesos como la diferenciación celular, la reparación y la cicatrización de las heridas y el desarrollo del ciclo del pelo. En nuestra opinión, un entendimiento más detallado en estas dos moléculas y las interacciones que entre ellas se producen probará ser de gran importancia para el campo de la ingeniería de tejidos dedicada a la piel.

Palabras clave: Matriz extracelular, Glicosaminoglicanos, Proteoglicanos, Ácido Hialurónico, Versicano

Accronym list

ECM – Extracellular Matrix	Col – Collagen
HA – Hyaluronic Acid	HAS – Hyaluronan Synthase
Ver – Versican	HYAL – Hyaluronidase
GAG – Glycosaminoglycan	HABR – Hyaluronic Acid Binding Region
PG - Proteoglycan	EGF – Epithelial Growth Factor
SC – Stratum Corneum	CBP – Complement Binding Protein

Correspondencia:

Jorge González-Rico
jorgegon@pa.uc3m.es

Introduction

The extracellular matrix (ECM) is a structural network made up of proteins, saccharides and other components. The ECM acts as connective tissue, as well as a scaffold providing support to the cells. It was thought that the ECM was an inert, metabolically inactive substance and that its unique function was to provide structural support to the cells. However, this vision of the ECM as a passive component in cellular activity has been debunked.

The view of the ECM as a mere tridimensional (3D) scaffold was expanded with the discovery that growth of most human cells depends on cellular adhesion to the ECM through a mechanism called anchorage dependence. This mechanism allows cells to grow whenever they are anchored to a surface or a scaffold¹.

The ECM is known to play an active role in various cellular processes, such as proliferation, differentiation and migration^{2,3}. It is formed by a variety of matrix macromolecules, being the composition and structure of these dependent on the tissue.

Components of the extracellular matrix

The main components of the ECM, regardless of the tissue, are fibrous proteins and proteoglycans (PGs)⁴. Fibrous proteins provide structural support to the ECM. They form three-dimensional structures that defines the mechanical properties of the tissues in the different organs. The most abundant fibrous protein in the dermal ECM is the collagen, which is in fact believed to be one of the most abundant proteins in the whole animal kingdom⁵. Other fiber-forming proteins present in the ECM include fibronectin, vitronectin and elastin^{6,7}.

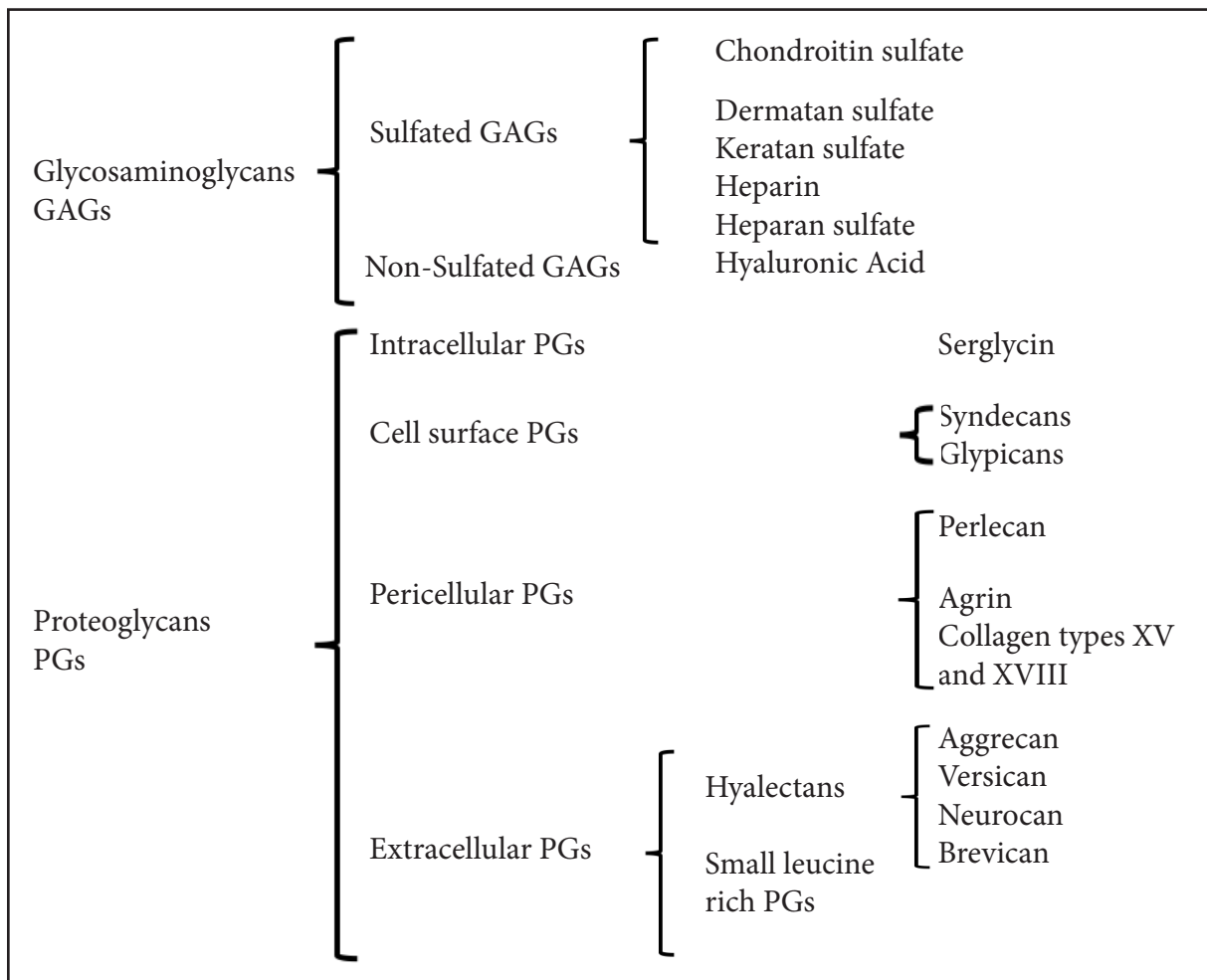
Glycosaminoglycans (GAGs) are long, unbranched polysaccharide chains. They usually appear covalently bound to a protein core, forming proteoglycans. Glycosaminoglycans have a repeating disaccharide structure composed mainly of N-acetylated hexosamines (N-acetyl-D-galactosamine or N-acetyl-D-glucosamine) and D-/L-hexuronic acid (D-glucuronic acid or L-iduronic acid)⁸. GAGs are negatively-charged, which allows them to retain large amounts of water⁹. Since the length of GAG

chains can vary widely, both among different GAG types and among chains of the same GAG type, the range of molecular weights in GAGs is very broad, ranging from a few kiloDaltons to over a hundred kiloDaltons. Glycosaminoglycans can be classified in sulfated and non-sulfated GAGs. Sulfated GAGs are chondroitin sulfate, dermatan sulfate, keratan sulfate, heparin and heparin sulfate, while hyaluronic acid or hyaluronan (HA) is the only non-sulfated GAG¹⁰. GAGs interact with numerous growth factors, cytokines and chemokines¹¹, cell surface receptors and ECM molecules. GAGs participate in many cell functions, such as signaling, proliferation, migration, differentiation, apoptosis and adhesion.

Proteoglycans (PGs) can be classified depending on their localization into four families: intracellular, cell surface, pericellular and extracellular proteoglycans. Intracellular PGs are solely composed by Serglycin, which is the only characterized PG present in secretory compartments. Cell surface proteoglycans are formed by two main subfamilies of PG, which are syndecans and glypicans. Pericellular membrane PGs carry mostly Heparan Sulfate chains. As their name indicates they are present in the surface of many cell types that anchor themselves via cell surface receptors such as integrins. They are also part of basement membranes. This family is formed by perlecan, agrin and collagen types XV and XVIII. Finally, extracellular PGs form the largest class, which is composed by two subfamilies: hyalectans and small leucine-rich proteoglycans¹². The family of the hyalectans is formed by the PGs aggrecan, versican (Ver), neurocan, and brevican, which share common structural features. Their N-terminal contains a HA-binding region, while the C-terminal domain binds to lectins.

Extracellular matrix of the skin

The skin is an organ composed by the following layers: epidermis, dermis and subcutaneous fatty tissue. Each of the layers have different cell populations and performs differential functions (Figure 1). Naturally, in each of the skin layers, the composition and structure of the ECM is different.



Scheme 1. Representation of the skin and the components of its ECM. The dermis, the bulk of the skin, has a rich ECM mainly composed by collagen, elastin and HA (images adapted with permission from Servier Medical Art freeware image bank).

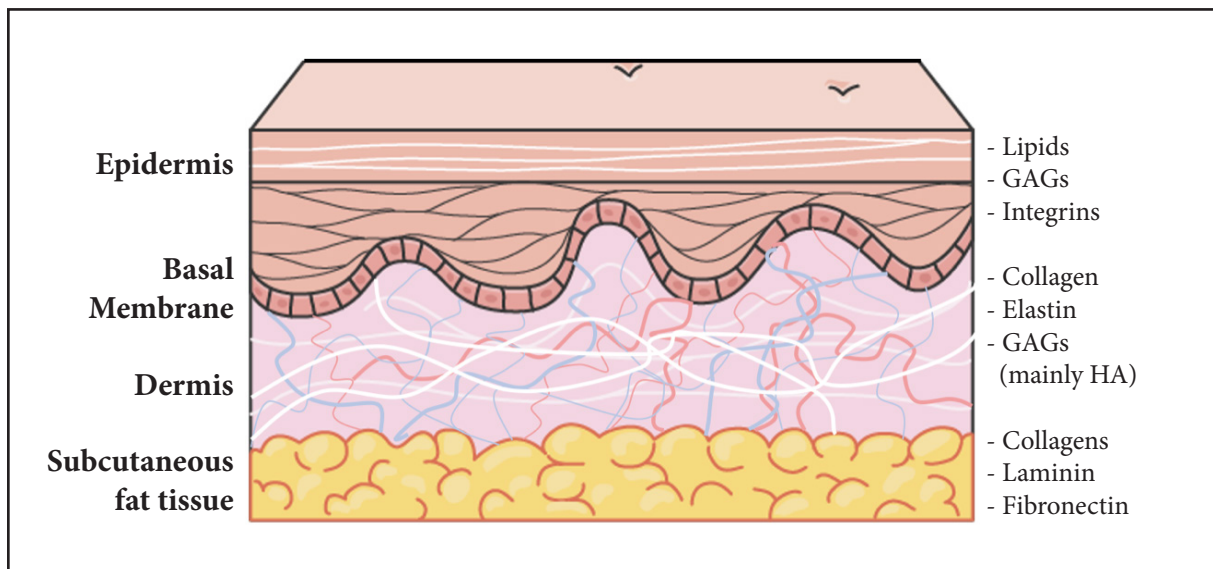


Figure 1. Representation of the skin and the components of its ECM. The dermis, the bulk of the skin, has a rich ECM mainly composed by collagen, elastin and HA (images adapted with permission from Servier Medical Art freeware image bank).

Epidermis. In the epidermis, the cells are highly packed. The keratinocytes and corneocytes (main cell population of the epidermis), are closely linked to each other through desmosomes¹³. Therefore, the spaces between cells are narrow, and the scarce ECM is constricted to these spaces. The outermost layer of the epidermis, the stratum corneum (SC) is where the cells are most packed, and the ECM, which is almost non-existent, is mainly composed by lipids. Ceramides, cholesterol, and non-essential fatty acids in the stratum corneum form lamellar layers, which composes its ECM¹⁴. As we move further down towards the basal membrane, the ECM becomes more abundant and includes proteins and GAGs such as HA or integrins¹⁵. Along the keratinocyte proliferating zone, intense Versican staining was observed¹⁶.

Basal Membrane. Between the epidermis and the dermis, the basement membrane is placed. This porous membrane is semipermeable to lipids and keeps the other two layers together¹⁷. It is an acellular membrane, mainly composed by type IV collagen¹⁸, to which cells from the lower portion of the epidermis attach.

Dermis. Below the basement membrane, the dermis can be found. The dermis comprises the bulk of the skin. Its ECM is much more abundant and significant than the epidermis ECM providing to the skin its mechanical properties. The main cell population are the fibroblasts. They are mesenchymal cells that play a key role in ECM formation through the secretion of growth factors and cytokines¹⁹. With respect to the ECM, it can be divided into fiber-forming structural molecules, nonfiber-forming structural molecules, and “matricellular proteins”. Fiber-forming molecules form a three-dimensional structure that provides support to the ECM and defines the mechanical properties of the skin. The most abundant protein in the dermal ECM is collagen. Non-fiber-forming molecules function to create a charged, dynamic and osmotically active space, and are mainly PGs and GAGs. Amongst these, the most abundant is hyaluronan. Matricellular proteins are mainly present during wound healing, and act as dynamic signalling molecules¹. Versican appears associated with

the elastic fibers¹⁶.

Subcutaneous fat tissue. The subcutaneous tissue is largely composed of fat cells and is often referred to as subcutaneous fat tissue or hypodermis. It is the layer between the dermis and the fascia. The function of the subcutaneous fat tissue is to provide thermal insulation, mechanical cushioning and store energy. Additionally, fat cells or adipocytes also have an endocrine function, secreting hormones such as leptin to alter energy turnover in the body and to regulate appetite. Adipocytes also have important signaling roles in osteogenesis and angiogenesis, and physical functions like phagocytosis. It has been reported that human fat contains multipotent stem cells²⁰.

The ECM of the subcutaneous fat tissue is mainly composed of collagens such as Col I, II, III, IV, V and VI, as well as subunits of Laminin and Fibronectin^{21,22}.

Relevance of HA-Ver relationship

As stated before, Versican is a proteoglycan from the aggregating chondroitin sulfate family. This family of proteoglycans have a tandem repeat in their G1 domains composed of two hyaluronan-binding domain repeats. This indicates a certain relationship between these two molecules. In fact, Versican colocalizes with hyaluronan in the pericellular matrix of cultured fibroblasts²³. and in epidermal keratinocyte tumors. The presence of both molecules and their level of expression is a marker for the aggressiveness of the disease²⁴.

It is interesting to study the relationship between these two key ECM molecules as they are a perfect target for tissue engineering due to their relevant role in cell development. Other than the interesting properties of these molecules described in this review, as well as their interaction, it is appealing to study the co-expression of these two molecules in different ECMs. The findings would provide further insights in their relationship and their mechanisms in order to apply these two key molecules in skin tissue engineering. For example, while HA scaffolds are currently being investigated and developed, Ver is yet to be used in tissue engineering. Therefore, understanding these two molecules and their

interactions, would facilitate the preparation of biomimetic scaffolds with properties more similar to the ECM.

This manuscript is focused on the description of two essential components of the ECM, HA and Ver. In particular, their structures, their synthesis, their degradation, their location and the functions they perform on different tissues are described. Information about their interaction will also be reviewed.

Hyaluronic acid

Hyaluronan is an essential component of the ECM that acts as a space filler molecule that maintains hydration, serves as a substrate for assembly of proteoglycans and cellular locomotion, regulates cell proliferation and development and has a role in tumor progression²⁵⁻²⁷, inflammation and wound healing^{28,29}. It is a key structural molecule of the ECM, and as such, extensive studies have been carried out about its structure and function, although some aspects are still uncovered³⁰. For example, it is well known that HA fragment size heavily affects the mechanisms for wound healing: high molecular weight HA promotes healing through promoting a fetal-like cell environment, whereas HA oligosaccharides favor fibrotic healing through stimulation of type I collagen. However, the mechanisms through which HA fragment size affects the ECM metabolism during wound repair require further investigation³¹. Other examples that

requires further investigation is the mechanism by which HA affects hair cycle³².

Structure

HA is a GAG with a simple repeating disaccharide sequence: poly[(1→4)-β-D-glucopyranosyluronic acid-(1→3)-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl], with no evidence of heterogeneity or branching. It is the only glycosaminoglycan that is not covalently bound to a protein core. Regarding its size, in normal healthy tissue, it has a polydisperse distribution with an average mass of about 6000kDa, which corresponds to a chain length of about 15000nm, which occupies a spherical domain of about 600nm³³, referred to as high molecular weight HA (HMW-HA). In tissue under pathological conditions such as cancer, inflammation or tissue remodeling, the HMW-HA is degraded faster, giving place to a higher concentration of low-molecular weight HA (LMW-HA). LMW-HA can be further degraded to shorter oligomers (o-HA). The size of HA molecules plays a role in cell signaling^{34,35}.

HA exists in solution in a flexible, coiled configuration, which allows HA to entrap large amounts of water. In dilution, HA coils start to entangle at concentrations lower than 1mg/mL. For large size molecules (larger than 6000kDa), this entanglement starts at the concentration at which chains would fill the solution and be forced to overlap domains, at 320μg/mL. This overlapping of the domains

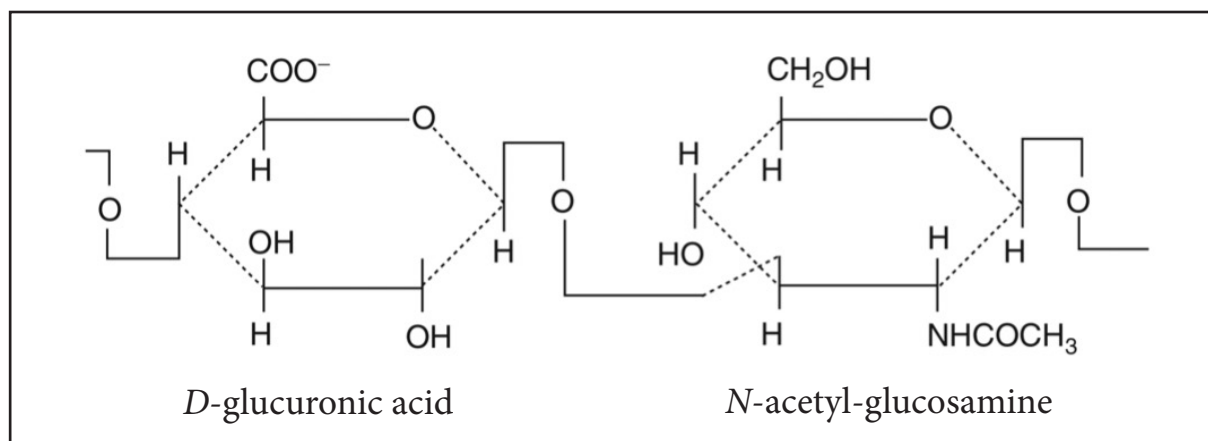


Figure 2. Hyaluronic acid structure: (1→4)-β-D-glucopyranosyluronic acid-(1→3)-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl³³.

causes HA viscosity to separate from the ideal HA concentration. If mutual macromolecular crowding (domain overlapping) were absent, the ideal behavior would be followed. In a real polymer solution, the nonideality contribution due to crowding causes a nearly exponential increase in specific viscosity as the overlap between polymer domain increases³³.

Synthesis

Apart from being the only non-sulfated GAG, and the only GAG that is not found covalently bound to a protein core, HA is also the only GAG that is not synthesized in the Golgi apparatus. In vertebrates, HA is produced on the inner face of the fibroblast plasma membrane and directly extruded onto the ECM by a family of transmembrane proteins called Hyaluronan Synthases (HAS1,2,3). The differences between the three proteins are not clear, although it has been reported that they produce HA chains of different lengths^{36,37}.

Degradation

HA has been demonstrated to have a high turnover rate³⁹⁻⁴¹. It has a half-life of 3 to 5 minutes in the blood stream and less than a day in the skin, being the total turnover in humans of around 15 grams per day. In the skin, about 20-30% percent of the turnover occurs by metabolic degradation in situ, while the rest is removed by the lymphatic system and subsequently degraded in the lymph nodes and liver. The elimination of HA through me-

tabolic pathways occurs by the degradation of this GAG into fragments of varying size. This is achieved by hydrolysis with the hyaluronidases enzymes (HYAL) of which six different homologous genes have been found⁴²⁻⁴⁴. The two primary mammalian hyaluronidases, Hyal-1 and Hyal-2, have different activities and degrade HA to either oligosaccharides or larger fragments. Several HA-degrading enzymes can be found in bacteria, fungi, and other organisms such as leeches⁴⁵.

Degradation of HA can also occur due to thermal and chemical causes. Thermal degradation of HA has been proven to occur. HA degradation at 37°C occurs at a higher rate (measured as weight- average molecular weight reduction) for lower molecular weight fragments of HA. Exposure to higher temperatures also affects thermal degradation of HA. At 60°C, degradation is similar to physiological temperature, whereas at 90°C, degradation is severely increased even in short periods of time⁴⁶.

Regarding chemical stability of HA, hydrolysis of HA was measured for different pH values. The degradation process is random and follows first-order kinetics independently of the pH value. However, lower pH values account for a higher degradation rate of HA. A linear dependence of the hydrolysis rate of HA on the proton concentration is expected. However, a change in the slope is observed for HA around pH 3-4 around the apparent pKa value of the GlcA unit of HA⁴⁷.

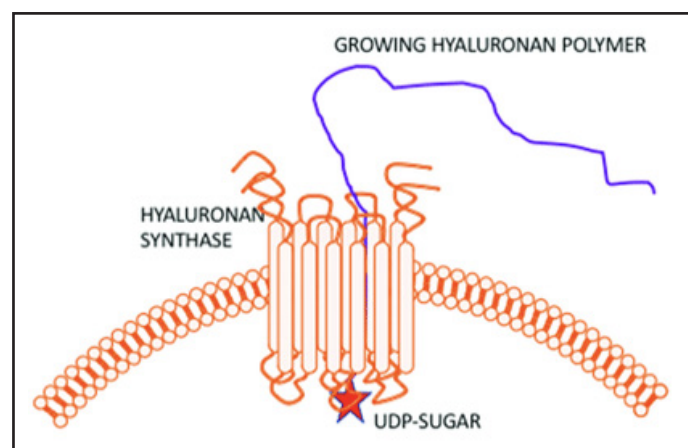


Figure 3. Schematic structure of the transmembrane protein: the hyaluronan synthase.³⁸(Image modified from McCarthy et al., licensed by CC BY 4.0).

Location and distribution

An exhaustive analysis of the HA content in the body of the rat was performed by Reed et al. in 1988. The results obtained from this analysis should be applicable to other mammals, due to the similar functions carried out by this glycosaminoglycan in all mammals species. More than half of the whole hyaluronan in the rat body was retrieved from the skin. About a quarter of HA was found to be located in the bones and joints taken together. Less than 10% was found in the muscles, while other organs contained only minor amounts of the GAG⁴⁸.

The distribution of HA within a tissue is not homogeneous either. Using histological techniques, it has been reported that, for example, in the skin, the content of HA in the dermis is much higher than that of the epidermis. Furthermore, in the dermis, the papillary dermis has a much higher HA content than the reticular dermis⁴⁹.

Roles

HA plays important roles in several processes such as skin hydration, tissue repair, angiogenesis and tumor progression.

Hydration. Due to its hydrophilic nature and its ability to entrap large amounts of water, HA plays a key role in skin hydration. HA is more abundant in the dermis than in the epidermis, but it plays a key role in hydration of the epidermis. The epidermis is separated from the dermis by the basement membrane and it is not vascularized. Therefore, the hydration of the epidermis depends on the HA-

bound water⁵⁰. Skin aging is characterized by the disappearance of HA in the epidermis. This means the loss of the main molecule responsible for hydration in the epidermis. Thus, skin moisture is reduced. The mechanisms for the loss of HA in the epidermis with aging are still unknown^{51,52}.

Tissue repair. HA plays a role in the inflammatory response in wound healing. HA fragments produced during inflammation induce a collection of genes in macrophages, including several members of the chemokine gene family⁵³. Furthermore, CD44 (the HA cellular receptor) plays a key role on leukocytes as a receptor for transendothelial migration at sites of inflammation. In this way, discrete populations of cells in peripheral blood are directed to migrate at inflammatory sites, where they recognize HA displayed on the surface of activated endothelial cells^{54,55}.

Angiogenesis. The correct formation of new blood vessels is an essential process for wound healing and repair of damaged tissues. However, excessive angiogenesis can be detrimental, since it may promote tumor growth and metastasis. GAGs, and notably HA, has been reported to play a key role in angiogenesis. Native high molecular weight HA is anti-angiogenic, while the products of degradation of HA (3-10 disaccharides) stimulate endothelial cell proliferation, migration and tube formation by activation of specific HA receptors CD44 and Receptor for HA-Mediated Motility (RHAMM, CD168)⁵⁶.

Tumor progression. HA plays a dual role in tumor progression. High molecular-weight

	Weight (g)	Total HA (mg)	HA (%)
Whole rat	201	60.5	100
Skin	40.2	33.8	56
Muscles	35.7	4.69	8
Skeleton and supporting tissues	57.6	16.2	27
Intestines and stomach	15.8	0.50	1
Remaining internal organs	43.4	5.25	9

Table 1. Content of HA in the organs of the body⁴⁸. More than half of the total content is found in the skin (56%), while around a quarter (27%) in the skeleton and supporting tissues.

HA is found in normal tissues and maintains homeostasis and restrains cell proliferation. During processes such as tissue remodeling and wound healing, HA is fragmented into low molecular weight polymers, which promote inflammation, immune cell recruitment and angiogenesis⁴⁴⁻⁴⁷. Tumor cells hijack the tightly regulated HA production/fragmentation. The processes associated with wound repair and remodeling then participate in driving and maintaining malignant progression. Moreover, elevated high molecular-weight HA production is related with cancer resistance²⁵.

Versican

Versican (Ver) is a member of the aggregating chondroitin sulfate proteoglycan family, which also includes aggrecan, neurocan and brevican^{16,57}. However, unlike aggrecan, which is almost exclusively expressed in cartilage and brain, and neurocan and brevican, which are proteoglycans expressed in the central nervous system, Ver is expressed in the ECM of a variety of tissues and organs⁵⁸.

Structure

The size of Ver varies depending on its isoform. It is formed by 3 structural domains: N-terminal domain or G1, C-terminal domain or G3, and a chondroitin sulfate chain binding region between G1 and G3 (Figure 4). The G1 domain is composed of an immunoglobulin (Ig)-like motif, followed by two proteoglycan tandem repeats known as HA-binding region (HABR). The G3 domain consists of two epidermal growth factor (EGF)-like repeats, a carbohydrate recognition Lecitin-like domain and a complement binding protein (CBP)-like motif^{59,60}. G1 and G3 domains are common to the whole aggregating chondroitin sulfate proteoglycans. Regarding the chondroitin sulfate binding region, it is formed by two subdomains, α -GAG and β -GAG. Four isoforms of Ver exist as a combination of the domains. V0 occurs when both α -GAG and β -GAG in the chondroitin sulfate binding region are present. V1 and V2 occur when only the β -GAG or the α -GAG subdomain is present, respectively. V3 occurs when neither α -GAG nor β -GAG subdomains are present⁶¹.

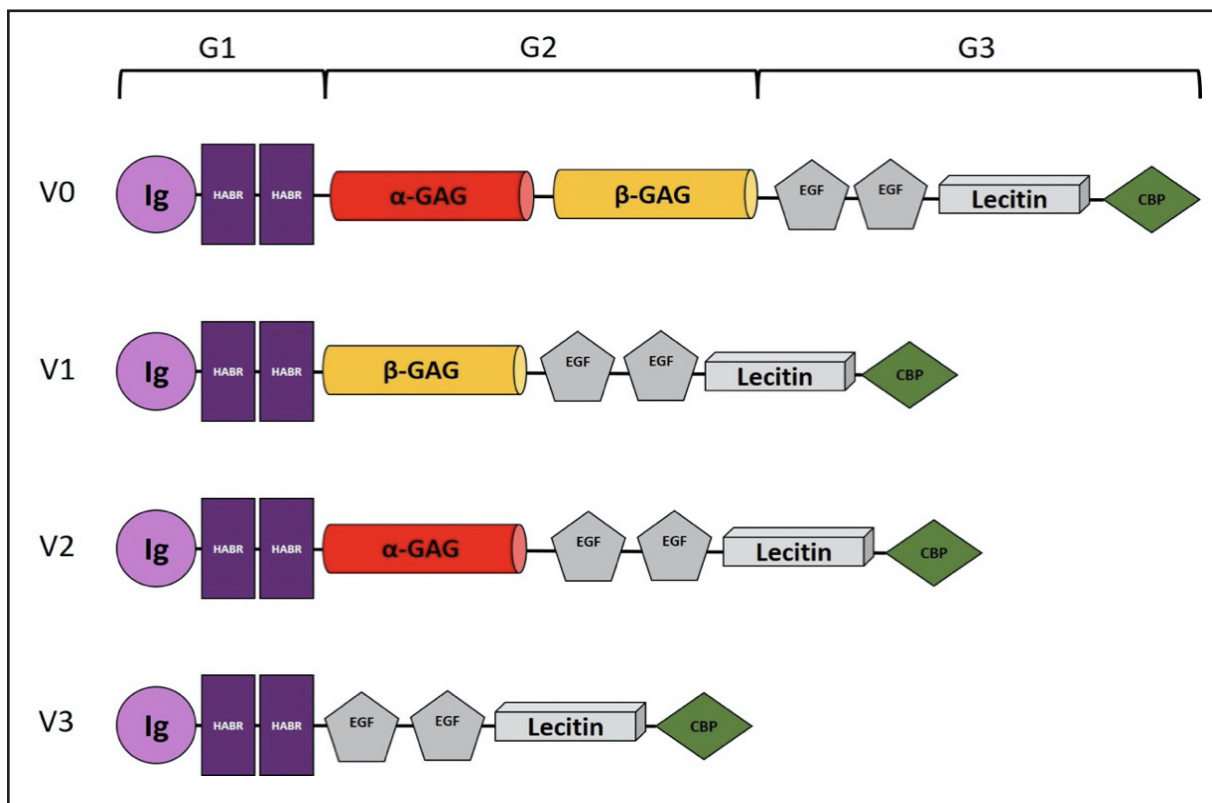


Figure 4. Versican and its isoforms resulting from alternative splicing. The exons that are the product to this process of alternative splicing are those coding for the chondroitin sulfate-binding chain (α -GAG and β -GAG domains).

Synthesis

Versican is coded by the VCAN gene in chromosome 5q13.2⁶² in humans divided into 15 exons over 90-100kb⁶³. The existence of different isoforms of Versican is due to the process of alternative splicing, namely, of exons 7 and 8, coding for the α -GAG and β -GAG subdomains, respectively. When both the entire exons 7 and 8 are present and no splicing occurs, V0 is formed. When exon 7 is spliced out, V1 is formed. When exon 8 is spliced out, V1 is formed. Finally, when both exon 7 and exon 8 are spliced out, V4 is formed⁵⁸.

Degradation

Several proteinase families are capable of degrading Ver. For example, matrix metalloproteinase (MMP)-1,-2,-3,-7, and -9 have been shown to degrade Versican in vitro⁶⁴⁻⁶⁶. Plasmin has been shown to degrade Versican as well⁶⁷. Finally, ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs)-1, -4,-5 and -9 have been shown to cleave versican⁶⁸⁻⁷¹.

Distribution

Versican is largely distributed along the whole body being part of the ECM in several tissues. Versican performs different roles. For example, it has modulatory roles in cell adhesion, migration and proliferation⁷²⁻⁷⁴. In vitro experiments have demonstrated that regulates the attachment of cells to various extracellular matrix components such as collagen I, fibronectin and laminin. There are indications that it may also participate in the control of keratinocyte and dermal fibroblast proliferation. A thorough study using immunohistochemistry techniques revealed the distribution of Versican within different tissues of the human body¹⁶.

Roles

As stated before, Ver has 4 isoforms each with a give structure resulting from the process of alternative splicing. Each isoform may play different roles in a given tissue process. In this section, we focus on the most relevant functions played by Versican in the skin.

Hair development and cycling. Hair development is described as a cycle of three phases: anagen (or growing phase), catagen (or transition phase) and telogen (or resting phase) ⁷⁵. The expression of Ver in the dermal papilla is more abundant in the anagen phase, diminishing in the catagen phase and being almost nonexistent in the telogen phase. However, in telogen follicles, Ver expression is found in the neck region of the hair. As hair cycle begins again, Ver disappears from the neck region and is again prominent in the dermal papilla. The expression of Ver in the growing phase of the hair dermal papilla indicates that it plays a significant role in hair cycle and hair development ⁷⁶. Furthermore, the expression of Ver is almost lost in the dermis of vellus-like follicles affected by male pattern baldness⁷⁷.

Provisional matrix. Hyaluronan and Versican interact to create pericellular “coats” and “open space” that facilitate cell sorting, proliferation, migration, and survival. They also contribute to the recruitment of leukocytes during development and in the early stages of disease. Those molecular complexes play important roles in controlling cell phenotype, shaping tissue response to injury and maintaining tissue homeostasis. Conversion of hyaluronan-/Ver-enriched provisional matrix to collagen-rich matrix is a “hallmark” of tissue fibrosis. Targeting the hyaluronan and Versican content of provisional matrices is becoming an attractive strategy for intervention in a variety of diseases including, cardiovascular pathologies and cancer⁷⁸.

Proliferation and apoptosis. Versican isoforms V1 and V2 have been shown to play important roles in cell proliferation and apoptosis, respectively. A study in which a mutant isoform of Ver V1 possessing a 2367-base pair deletion in its β -GAG domain abolished V1’s proliferative activity, proved that β -GAG domain in V1 is essential for its promoting effect in cell proliferation. Similarly, a mutant isoform of V2 with a 1953-base pair deletion in the α -GAG domain lacked the inhibitory activity of V2, hence suggesting that α -GAG is essential for V2’s inhibitory activity⁷⁴.

Tissue	Versican distribution
Cardiovascular system	Ver-positive capillaries between the Ver-negative heart muscle cells. In large blood vessels, all three layers presented staining, while in normal muscular arteries, Ver is restricted to the adventitia.
Lymphatic organs	Intense Ver staining was confined to the connective tissue of the capsule and around central arterioles in the spleen.
Supporting tissue	In tendon, no Ver staining was observed other than in positive foci probably originated from fibrocytes and the capillary network. Ver staining is not present in the cartilages (neither in the ECM nor in the cells) of the ribs and the trachea. While both the ECM and the cartilage tissue in the epiglottis and in the intervertebral discs are positive. No staining was found in association with skeletal muscle fibers. The endomysium of the intrafusal fibers of the muscle spindle showed intense staining.
Skin and breast tissue	Intense Ver staining is observed along the keratinocyte proliferation zone in the basal cell layer of the epidermis, including the sheaths of hair follicles. In the dermis, Ver appears associated with elastic fibers. In the breast, connective tissue shows weak staining. No staining is found in the epithelial component of this tissue.
Gastrointestinal tract	Ver was detected in the smooth muscle tissue of the esophagus, as well as in the sent in the muscular layers of the intestine. In the liver, staining was observed in the portal tracts. In the pancreas, Ver is localized in the connective tissue surrounding the exocrine acini and in various ducts and blood vessels.
Respiratory tract	Intense staining is shown in the subepithelial connective tissue. In the alveolar walls, Ver was co-localized with the fine fibers of the elastic network.
Endocrine organs	The connective tissue surrounding the adrenal cortex showed Ver staining. In the subcapsular region and the zona glomerulosa, staining intensity was increased. In the thyroid, weak staining was observed at the luminal surface of thyrocytes and in the subepithelial connective tissue. In the adenohipophysis, only the network of connective tissue and capillaries surrounding nests and cords of endocrine cells contained Ver.
Urinary tract	In the bladder and the ureter, layers of connective tissue and smooth muscle cells stained positive, covered by Ver-negative transitional epithelium. In the kidney, Ver was present in the surrounding connective tissue, with more pronounced staining around regressively transformed glomeruli.
Female genital tract	In the ovary, Ver was present in the large blood vessels of the medulla. A strong immunoreaction was observed in the dense plexus of elastic fibers beneath the epithelium of the vagina. In the placenta, Ver was localized in the villous mesenchyme and around blood vessels.
Male genital tract	In the testis, Ver was restricted to the tunica propria surrounding seminiferous tubules. In the prostate, a strong linear Ver immunoreaction was observed at the apical surface of the columnar cells of the epithelium.
Peripheral and central nervous system	In the peripheral nervous system, nerves were surrounded by Ver-positive perineurium. In the central nervous system, staining of white matter similarly to glial fibrillary acidic protein suggests a close association of Ver expression with astrocytes.

Table 2. Distribution of the proteoglycan Ver in the human body¹⁶.

Tissue engineering background for HA and Versican

Hyaluronan has been widely used in the field of tissue engineering, in particular, in cartilage and skin regeneration. Some studies propose to apply an injection of hyaluronan under the skin to promote its regeneration. It can both be used as a carrier matrix containing (diverse components, such as human cells or growth factors⁷⁹) or as unique component, has been proven to stimulate collagen synthesis in damaged human skin⁸⁰. Other studies indicate that HA can be used as a drug delivery agent for various routes of administration such as ophthalmic, nasal or parental, and more recently, as a topic drug delivery agent⁸¹. However, the main use of HA in skin engineering is as a scaffold for wound healing and tissue repair⁸²⁻⁸⁶. The main advantages of the use of HA as a scaffold in tissue engineering are: 1) HA is involved in skin wound healing and angiogenesis⁸⁷. Therefore, is a promising candidate for skin scaffolding for tissue engineering and repair; 2) it is also hydrophilic, non-adhesive and biodegradable, which means that HA scaffolds degrade rapidly in aqueous solution and it is eligible for use in vivo; 3) HA contains functional groups that can be used to produce hydrogels by chemical crosslinking or introduce functional domains to achieve tuneable biological and mechanical properties in the scaffold; 4) furthermore, due to its ability to retain water, HA scaffolds are able to maintain an hydrated environment, ideal for wound grafts⁸⁵.

Unfortunately, there exists a number of disadvantages that are yet to be overcome. Most of them arise from the production process. Historically, HA has been obtained from many animal sources, mainly rooster comb. While HA itself is non-immunogenic, other matrix proteins can be mixed with the HA solution. Consequently, many purification steps are needed to provide a safe solution of HA. Recently, many companies are offering HA secreted by microorganisms such as certain strains of *Streptococcus zooepidemicus* or *S. equi*. However, the risk of mutation of the bacterial strains and possible co-production of toxins,

pyrogens or immunogens are an important concern with fermentative HA. Therefore, HA from rooster comb is still currently preferred for human treatment⁸⁸. Furthermore, even if purity of HA is not required, it is not desirable to provide samples with a heterogeneous distribution of HA molecular weight. Low polydispersity is essential as HA would infer different processes depending on its molecular weight⁸⁹.

Regarding the use of HA as a scaffold, the main problem arises from its mechanical properties. HA solutions do not form scaffolds with long lasting mechanical integrity. To achieve tailored mechanical properties and degradation rates, chemical modification and crosslinking of HA is often necessary. However, this is not an ideal solution, since HA in the ECM does not appear as a crosslinked matrix, and therefore, is not an ideal environment for cells⁹⁰.

Versican has not been as widely used as HA in tissue engineering of the skin. Nevertheless, it has been used as a marker for skin health. Some studies have been carried out on its role as a factor promoting skin development⁹¹. The main interest of Versican in skin engineering is due to its role in hair follicle development and cycling, being hair production an emerging field of research⁹².

Conclusions and future perspectives

As presented throughout this review, HA and Versican are two very appealing molecules to study due to the important role they play in several physiological processes such as differentiation and wound healing. Nowadays, they are mainly targeted for cancer therapies, since they take part in tumor progression^{93,94}. Tissue engineering could also make use of HA and Versican to facilitate tissue regeneration. They could be added to scaffolds to imitate the native ECM with the idea of replicating in vitro the processes that cells undergo in this natural scaffold. To be able to create realistic ECMs in vitro, further studies are needed to characterize the distribution and interaction of these two molecules. As future work, a study will be carried out in which, using immunohistoche-

mistry and immunofluorescence, the location, the distribution and the co-localization of the two molecules will be analyzed.

Acknowledgements

Jorge Gonzalez-Rico would like to acknowledge to the Convocatoria Ayudantes de Investigación de la Comunidad Autónoma de Madrid (CM 2018 - PEJ-2018-AI/IND-12079). This work was partially supported by Programa de Actividades de I+D entre Grupos de Investigación de la Comunidad de Madrid, S2018/BAA-4480, Biopieltec-CM, Programa Estatal de I+D+i Orientada a los Retos de la Sociedad, RTI2018-101627-B-I00, PID2019-109820RB-I00, Programa de Apoyo a la Realización de Proyectos Interdisciplinarios de I+D para Jóvenes Investigadores de la Universidad Carlos III de Madrid (project: BIOMASKIN) and Cátedra Fundación Ramón Areces.

References

1. **Tracy, L. E., Minasian, R. A. & Catterson, E. J.** Extracellular Matrix and Dermal Fibroblast Function in the Healing Wound. *Adv. Wound Care* 5, 119–136 (2016).
2. **Kular, J. K., Basu, S. & Sharma, R. I.** The extracellular matrix: Structure, composition, age-related differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *J. Tissue Eng.* 5, (2014).
3. **Uitto, J., Olsen, D. R. & Fazio, M. J.** Extracellular matrix of the skin: 50 years of progress. *J. Invest. Dermatol.* 92, 61–77 (1989).
4. **Mouw, J. K., Ou, G. & Weaver, V. M.** Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15, 771–785 (2014).
5. **Eyre, D. R.** Collagen: molecular diversity in the body's protein scaffold. *Science* 207, 1315–1322 (1980).
6. **Frantz, C., Stewart, K. M. & Weaver, V. M.** The extracellular matrix at a glance. *J. Cell Sci.* 123, 4195–4200 (2010).
7. **Mecham, R. P.** Overview of Extracellular Matrix. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 57, 1–16 (2012).
8. **Pomin, V. H. & Mulloy, B.** Glycosaminoglycans and proteoglycans. *Pharmaceuticals* 11, 1–9 (2018).
9. **Afratis, N. et al.** Glycosaminoglycans: key players in cancer cell biology and treatment. *FEBS J.* 279, 1177–1197 (2012).
10. **Casale, J. & Crane, J. S.** Biochemistry, Glycosaminoglycans. StatPearls Publishing (2019). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544295/%0A>.
11. **Proudfoot, A. E. I., Johnson, Z., Bonvin, P. & Handel, T. M.** Glycosaminoglycan Interactions with Chemokines Add Complexity to a Complex System. *Pharmaceuticals (Basel)*. 10, 70 (2017).
12. **Theocharis, A. D., Skandalis, S. S., Gialeli, C. & Karamanos, N. K.** Extracellular matrix structure. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 97, 4–27 (2016).
13. **Sandjeu, Y. & Haftek, M.** Desmosealin and other components of the epidermal extracellular matrix. *J. Physiol. Pharmacol.* 60 Suppl 4, 23–30 (2009).
14. **Elias, P. M.** Structure and function of the stratum corneum extracellular matrix. *J. Invest. Dermatol.* 132, 2131–2133 (2012).
15. **Chermnykh, E., Kalabusheva, E. & Vorotelyak, E.** Extracellular matrix as a regulator of epidermal stem cell fate. *Int. J. Mol. Sci.* 19, (2018).
16. **Bode-Lesniewska, B. et al.** Distribution of the large aggregating proteoglycan versican in adult human tissues. *J. Histochem. Cytochem.* 44, 303–312 (1996).
17. **Woodley, D. T. & McNutt, S.** The Basement Membrane Zone at the Dermal --- Epidermal Junction of Human Skin. in *Epidermolysis Bullosa: Basic and Clinical Aspects* (eds. Lin, A. N. & Carter, D. M.) 19–36 (Springer New York, 1992). doi:10.1007/978-1-4612-2914-8_2
18. **Behrens, D. T. et al.** The epidermal basement membrane is a composite of separate laminin- or collagen IV-containing networks connected by aggregated perlecan, but not by nidogens. *J. Biol. Chem.* 287, 18700–18709 (2012).
19. **Nilforoushzadeh, M. et al.** Dermal Fibroblast Cells: Biology and Function in Skin Regeneration. *J. Ski. Stem Cell In Press*, (2017).
20. **Shimizu, H.** Chapter 1: Structure and Function of the Skin. in *Shimizu's Textbook of Dermatology* 19–20 (Wiley-Blackwell, 2007).
21. **Mori, S., Kiuchi, S., Ouchi, A., Hase, T. & Murase, T.** Characteristic expression of extracellular matrix in subcutaneous adipose tissue development and adipogenesis; comparison with visceral adipose tissue. *Int. J. Biol. Sci.* 10, 825–833 (2014).
22. **Nakajima, I., Aso, H., Yamaguchi, T. & Ozutsu, K.** Adipose tissue extracellular matrix: newly organized by adipocytes during differentiation. *Differentiation* 63, 193–200 (1998).
23. **Evanko, S. P., Potter-Perigo, S., Johnson, P. Y. & Wight, T. N.** Organization of hyaluronan and versican in the extracellular matrix of human fibroblasts treated with the viral mimetic poly I:C. *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc.* 57, 1041–1060 (2009).
24. **Karvinen, S., Kosma, V.-M., Tammi, M. I. & Tammi, R.** Hyaluronan, CD44 and versican in epidermal keratinocyte tumours. *Br. J. Dermatol.* 148, 86–94 (2003).
25. **Liu, M., Tolg, C. & Turley, E.** Dissecting the Dual Nature of Hyaluronan in the Tumor Microenvi-

- ronment. *Front. Immunol.* 10, 947 (2019).
26. **Schwertfeger, K. L., Cowman, M. K., Telmer, P. G., Turley, E. A. & McCarthy, J. B.** Hyaluronan, Inflammation, and Breast Cancer Progression. *Front. Immunol.* 6, 236 (2015).
 27. **Lokeshwar, V. B., Mirza, S. & Jordan, A.** Targeting hyaluronan family for cancer chemoprevention and therapy. *Adv. Cancer Res.* 123, 35–65 (2014).
 28. **Weigel, P. H., Frost, S. J., McGary, C. T. & LeBoeuf, R. D.** The role of hyaluronan in inflammation and wound healing. *Int. J. Tissue React.* 10, 355–365 (1988).
 29. **Litwiniuk, M., Krejner, A., Speyrer, M. S., Gauto, A. R. & Grzela, T.** Hyaluronan in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds a Compend. Clin. Res. Pract.* 28, 78–88 (2016).
 30. **Almond, A.** Hyaluronan. *Cell. Mol. Life Sci.* 64, 1591–1596 (2007).
 31. **David-Raoudi, M. et al.** Differential effects of hyaluronan and its fragments on fibroblasts: relation to wound healing. *Wound repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. [and] Eur. Tissue Repair Soc.* 16, 274–287 (2008).
 32. **Underhill, C. B.** Hyaluronan is inversely correlated with the expression of CD44 in the dermal condensation of the embryonic hair follicle. *J. Invest. Dermatol.* 101, 820–826 (1993).
 33. **Cowman, M. K.** Hyaluronan and Hyaluronan Fragments. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 74, (Elsevier Inc., 2017).
 34. **Tavianatou, A. G. et al.** Hyaluronan: molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer. *FEBS J.* 286, 2883–2908 (2019).
 35. **Cyphert, J. M., Trempus, C. S. & Garantziotis, S.** Size Matters: Molecular Weight Specificity of Hyaluronan Effects in Cell Biology. *Int. J. Cell Biol.* 2015, 563818 (2015).
 36. **Weigel, P. H., Hascall, V. C. & Tammi, M.** Hyaluronan synthases. *J. Biol. Chem.* 272, 13997–14000 (1997).
 37. **Weigel, P. H.** Hyaluronan Synthase: The Mechanism of Initiation at the Reducing End and a Pendulum Model for Polysaccharide Translocation to the Cell Exterior. *Int. J. Cell Biol.* 2015, 367579 (2015).
 38. **McCarthy, J., El-Ashry, D. & Turley, E.** Hyaluronan, Cancer-Associated Fibroblasts and the Tumor Microenvironment in Malignant Progression. *Front. Cell Dev. Biol.* 6, 48 (2018).
 39. **Laurent, U. B., Dahl, L. B. & Reed, R. K.** Catabolism of hyaluronan in rabbit skin takes place locally, in lymph nodes and liver. *Exp. Physiol.* 76, 695–703 (1991).
 40. **Reed, R. K., Laurent, U. B., Fraser, J. R. & Laurent, T. C.** Removal rate of [³H]hyaluronan injected subcutaneously in rabbits. *Am. J. Physiol.* 259, H532–5 (1990).
 41. **Fraser, J. R., Laurent, T. C., Pertoft, H. & Baxter, E.** Plasma clearance, tissue distribution and metabolism of hyaluronan injected intravenously in the rabbit. *Biochem. J.* 200, 415–424 (1981).
 42. **Fraser, J. R. E., Laurent, T. C. & Laurent, U. B. G.** Hyaluronan: Its nature, distribution, functions and turnover. *J. Intern. Med.* 242, 27–33 (1997).
 43. **Laurent, U. B. G. & Reed, R. K.** Turnover of hyaluronan in the tissues. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 7, 237–256 (1991).
 44. **Fraser, J. R. & Laurent, T. C.** Turnover and metabolism of hyaluronan. *Ciba Found. Symp.* 143, 41–49, 281–285 (1989).
 45. **Stern, R. & Jedrzejewski, M. J.** Hyaluronidases: their genomics, structures, and mechanisms of action. *Chem. Rev.* 106, 818–839 (2006).
 46. **Mondek, J., Kalina, M., Simulescu, V. & Pekař, M.** Thermal degradation of high molar mass hyaluronan in solution and in powder; comparison with BSA. *Polym. Degrad. Stab.* 120, 107–113 (2015).
 47. **Tømmeraas, K. & Melander, C.** Kinetics of Hyaluronan Hydrolysis in Acidic Solution at Various pH Values. *Biomacromolecules* 9, 1535–1540 (2008).
 48. **Reed, R. K., Lilja, K. & Laurent, T. C.** Hyaluronan in the rat with special reference to the skin. *Acta Physiol. Scand.* 134, 405–411 (1988).
 49. **Papakonstantinou, E., Roth, M. & Karakiulakis, G.** Hyaluronan: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol.* 4, 253–258 (2012).
 50. **Stern, R. & Maibach, H. I.** Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clin. Dermatol.* 26, 106–122 (2008).
 51. **Meyer, L. J. & Stern, R.** Age-dependent changes of hyaluronan in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 102, 385–389 (1994).
 52. **Longas, M. O., Russell, C. S. & He, X. Y.** Evidence for structural changes in dermatan sulfate and hyaluronan with aging. *Carbohydr. Res.* 159, 127–136 (1987).
 53. **McKee, C. M. et al.** Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. The role of HA size and CD44. *J. Clin. Invest.* 98, 2403–2413 (1996).
 54. **Lesley, J., Hyman, R., English, N., Catterall, J. B. & Turner, G. A.** CD44 in inflammation and metastasis. *Glycoconj. J.* 14, 611–622 (1997).
 55. **Mohamadzadeh, M., DeGrendele, H., Arizpe, H., Estess, P. & Siegelman, M.** Proinflammatory stimuli regulate endothelial hyaluronan expression and CD44/HA-dependent primary adhesion. *J. Clin. Invest.* 101, 97–108 (1998).
 56. **Slevin, M. et al.** Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular disease: uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways. *Matrix Biol.* 26, 58–68 (2007).
 57. **LeBaron, R. G., Zimmermann, D. R. & Ruoslahti, E.** Hyaluronate binding properties of versin

- can. *J. Biol. Chem.* 267, 10003–10010 (1992).
58. **Wu, Y. J., La Pierre, D. P., Wu, J., Yee, A. J. & Yang, B. B.** The interaction of versican with its binding partners. *Cell Res.* 15, 483–494 (2005).
 59. **Dours-Zimmermann, M. T. & Zimmermann, D. R.** A novel glycosaminoglycan attachment domain identified in two alternative splice variants of human versican. *J. Biol. Chem.* 269, 32992–32998 (1994).
 60. **Ito, K., Shinomura, T., Zako, M., Ujita, M. & Kimata, K.** Multiple forms of mouse PG-M, a large chondroitin sulfate proteoglycan generated by alternative splicing. *J. Biol. Chem.* 270, 958–965 (1995).
 61. **Wu, Y. et al.** Versican isoforms modulate expression and function of nicotinic acetylcholine receptors. *Int. J. Physiol. Pathophysiol. Pharmacol.* 1, 64–75 (2009).
 62. **Iozzo, R. V., Naso, M. F., Cannizzaro, L. A., Wasimuth, J. J. & McPherson, J. D.** Mapping of the versican proteoglycan gene (CSPG2) to the long arm of human chromosome 5 (5q12-5q14). *Genomics* 14, 845–851 (1992).
 63. **Naso, M. F., Zimmermann, D. R. & Iozzo, R. V.** Characterization of the complete genomic structure of the human versican gene and functional analysis of its promoter. *J. Biol. Chem.* 269, 32999–33008 (1994).
 64. **Passi, A., Negrini, D., Albertini, R., Miserochi, G. & De Luca, G.** The sensitivity of versican from rabbit lung to gelatinase A (MMP-2) and B (MMP-9) and its involvement in the development of hydraulic lung edema. *FEBS Lett.* 456, 93–96 (1999).
 65. **Halpert, I. et al.** Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 9748–9753 (1996).
 66. **Perides, G. et al.** Glial hyaluronate-binding protein: a product of metalloproteinase digestion of versican? *Biochem. J.* 312 (Pt 2, 377–384 (1995).
 67. **Kenagy, R. D. et al.** Increased plasmin and serine proteinase activity during flow-induced intimal atrophy in baboon PTFE grafts. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22, 400–404 (2002).
 68. **Sandy, J. D. et al.** Versican V1 proteolysis in human aorta in vivo occurs at the Glu441-Ala442 bond, a site that is cleaved by recombinant ADAMTS-1 and ADAMTS-4. *J. Biol. Chem.* 276, 13372–13378 (2001).
 69. **Jönsson-Rylander, A.-C. et al.** Role of ADAMTS-1 in atherosclerosis: remodeling of carotid artery, immunohistochemistry, and proteolysis of versican. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 180–185 (2005).
 70. **Cross, N. A. et al.** The expression and regulation of ADAMTS-1, -4, -5, -9, and -15, and TIMP-3 by TGFbeta1 in prostate cells: relevance to the accumulation of versican. *Prostate* 63, 269–275 (2005).
 71. **Somerville, R. P. T. et al.** Characterization of ADAMTS-9 and ADAMTS-20 as a distinct ADAMTS subfamily related to *Caenorhabditis elegans* GON-1. *J. Biol. Chem.* 278, 9503–9513 (2003).
 72. **Merrilees, M. J., Zuo, N., Evanko, S. P., Day, A. J. & Wight, T. N.** G1 domain of versican regulates hyaluronan organization and the phenotype of cultured human dermal fibroblasts. *J. Histochem. Cytochem.* 64, 353–363 (2016).
 73. **Zimmermann, D. R., Dours-zimmermann, M. T., Schubert, M. & Brueckner-tuderman, L.** Versican Is Expressed in the Proliferating Zone in the Epidermis and in Association with the Elastic Network of the Dermis. 124, 817–825 (1994).
 74. **Sheng, W. et al.** The roles of versican V1 and V2 isoforms in cell proliferation and apoptosis. *Mol. Biol. Cell* 16, 1330–1340 (2005).
 75. **Alonso, L. & Fuchs, E.** The hair cycle. *J. Cell Sci.* 119, 391–393 (2006).
 76. **Cros, D. L., Lebaron, R. G. & Couchman, J. R.** Association of Versican with Dermal Matrices and its Potential Role in Hair Follicle Development and Cycling. *J. Invest. Dermatol.* 105, 426–431 (1995).
 77. **Soma, T., Tajima, M. & Kishimoto, J.** Hair cycle-specific expression of versican in human hair follicles. *J. Dermatol. Sci.* 39, 147–154 (2005).
 78. **Wight, T. N.** Provisional matrix: A role for versican and hyaluronan. *Matrix Biol.* 60–61, 38–56 (2017).
 79. **Okabe, K. et al.** Injectable soft-tissue augmentation by tissue engineering and regenerative medicine with human mesenchymal stromal cells, platelet-rich plasma and hyaluronic acid scaffolds. *Cytherapy* 11, 307–316 (2009).
 80. **Wang, F. et al.** In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch. Dermatol.* 143, 155–163 (2007).
 81. **Brown, M. B. & Jones, S. A.** Hyaluronic acid: a unique topical vehicle for the localized delivery of drugs to the skin. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 19, 308–318 (2005).
 82. **Hong, L. et al.** Hyaluronic acid (HA)-based hydrogels for full-thickness wound repairing and skin regeneration. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 29, 150 (2018).
 83. **Monteiro, I. P., Shukla, A., Marques, A. P., Reis, R. L. & Hammond, P. T.** Spray-assisted layer-by-layer assembly on hyaluronic acid scaffolds for skin tissue engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A* 103, 330–340 (2015).
 84. **Chircov, C., Grumezescu, A. M. & Bejenaru, L. E.** Hyaluronic acid-based scaffolds for tissue engineering. *Rom. J. Morphol. Embryol. = Rev. Roum. Morphol. Embryol.* 59, 71–76 (2018).

85. **Collins, M. N. & Birkinshaw, C.** Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering—A review. *Carbohydr. Polym.* 92, 1262–1279 (2013).
86. **Landi, A. et al.** Hyaluronic acid scaffold for skin defects in congenital syndactyly release surgery: a novel technique based on the regenerative model. *J. Hand Surg. Eur.* Vol. 39, 994–1000 (2014).
87. **Pardue, E. L., Ibrahim, S. & Ramamurthi, A.** Role of hyaluronan in angiogenesis and its utility to angiogenic tissue engineering. *Organogenesis* 4, 203–214 (2008).
88. **Kogan, G., Soltés, L., Stern, R. & Gemeiner, P.** Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnol. Lett.* 29, 17–25 (2007).
89. **Liu, L., Liu, Y., Li, J., Du, G. & Chen, J.** Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microb. Cell Fact.* 10, 99 (2011).
90. **Xu, X., Jha, A. K., Harrington, D. A., Farach-Carson, M. C. & Jia, X.** Hyaluronic Acid-Based Hydrogels: from a Natural Polysaccharide to Complex Networks. *Soft Matter* 8, 3280–3294 (2012).
91. **Merrilees, M. J. et al.** Use of versican variant V3 and versican antisense expression to engineer cultured human skin containing increased content of insoluble elastin. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 11, 295–305 (2017).
92. **du Cros, D. L., LeBaron, R. G. & Couchman, J. R.** Association of versican with dermal matrices and its potential role in hair follicle development and cycling. *J. Invest. Dermatol.* 105, 426–431 (1995).
93. **Mitsui, Y. et al.** Versican Promotes Tumor Progression, Metastasis and Predicts Poor Prognosis in Renal Carcinoma. *Mol. Cancer Res.* 15, 884–895 (2017).
94. **Sato, N., Cheng, X.-B., Kohi, S., Koga, A. & Hirata, K.** Targeting hyaluronan for the treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Acta Pharm. Sin. B* 6, 101–105 (2016).

Estatutos

Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales S.I.B.B.

Aprobados en la asamblea general extraordinaria del 16 de noviembre de 2019

CAPÍTULO I. DENOMINACIÓN, SEDE, LENGUA, EMBLEMA Y OBJETO DE LA SOCIEDAD.

ARTÍCULO 1. Se constituyó en Barcelona, el 10 de noviembre de 1989, la Sociedad Ibérica de Biomecánica, como entidad sin ánimo de lucro, que se regirá por los siguientes estatutos, y en lo no previsto en ellos, por la Ley Orgánica nº 1/2002 de 22 de marzo, reguladora del Derecho de Asociación.

ARTÍCULO 2. Su denominación, para todos sus efectos y representación, es de «SOCIEDAD IBÉRICA DE BIOMECAÁNICA Y BIOMATERIALES», fijándose su sede en el Departamento de Nanomateriales Poliméricos y Biomateriales del Instituto de Ciencia y Tecnología de polímeros. C) Juan de la Cierva 3, 28006-Madrid. Podrán establecerse delegaciones de carácter permanente en otro municipio del Territorio Español, o de cualquier otro Estado Extranjero, previo cumplimiento de los requisitos legales.

ARTÍCULO 3. La sociedad extiende su ámbito de aplicación a todo el territorio nacional, sin perjuicio de aquellas actividades que la Junta Directiva acuerde realizar en otros Estados Extranjeros.

ARTÍCULO 4. Se reconocen como idiomas oficiales de la sociedad el castellano y el portugués.

ARTÍCULO 5. La sociedad adopta para su representación gráfica un emblema consistente en una reproducción de la parte proximal de un fémur humano. En el centro de la cabeza femoral está situada una cabeza de tornillo y como fondo una rueda dentada de doce dientes.

ARTÍCULO 6. El patrimonio de la sociedad es independiente del de sus miembros.

ARTÍCULO 7. El objetivo de la sociedad es el de agrupar a todos aquellos profesionales y personas interesadas en los campos de las ciencias biomecánicas y de los biomateriales con los fines siguientes:

- A. Promover, fomentar el conocimiento entre sus miembros y difundir el estudio y el desarrollo sobre la biomecánica y los biomateriales.
- B. Promover el intercambio de experiencias y conocimientos en dichos temas entre los asociados.
- C. Difundir e informar de los progresos y avances científicos de la biomecánica y de los biomateriales.
- D. Colaborar y coordinar actividades con organizadores nacionales e internacionales que tengan objetivos afines.
- E. Promover movimientos de educación sanitaria y en general de cuantas acciones vayan dirigidas a mejorar la calidad de vida de las personas.
- F. Asesorar y apoyar a los Organismos Sanitarios y Sociales de carácter oficial y a cuantas instituciones, tanto de ámbito nacional como autonómico y local legalmente reconocidas, se ocupen de la Biomecánica y de los Biomateriales.
- G. Diseñar y promover sistemas de formación básica, especializada y continuada para todas las disciplinas en relación con las ciencias de la biomecánica y de los biomateriales.

- H. Utilizar las posibilidades que otorgan las nuevas tecnologías de la información y la comunicación para lograr la máxima relevancia en el cumplimiento de los fines anteriores.
- I. Patrocinar Reuniones Científicas, a celebrar en fechas diferentes a las del Congreso anual, siempre y cuando estas Reuniones se realicen con participación de Miembros de la asociación y aprobadas por la Junta Directiva de la S.I.B.B.

CAPÍTULO II. DE LOS MIEMBROS.

ARTÍCULO 8. La Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales se compondrá de los miembros fundadores, honorarios, de número, eméritos, corporativos, y corresponsales.

ARTÍCULO 9. Son **Miembros Fundadores** aquellos que han intervenido en la constitución de la sociedad y son Miembros de número.

ARTÍCULO 10. Podrán ser **Miembros Honorarios** aquellas personas, cualquiera que sea su nacionalidad, cuyos méritos y realizaciones a juicio de la junta directiva, los haga acreedores a tal título y sean aceptados y nombrados por Asamblea General. Los miembros honorarios están dispensados de abonar la cuota anual y cualquier otra derrama o aportación que se solicite.

ARTÍCULO 11. Serán **Miembros de número** aquellos titulados superiores o con grado con especial dedicación a la biomecánica y/o biomateriales y, excepcionalmente, aquellas personas no tituladas que demuestren una especial dedicación en dichas materias, previa solicitud al presidente de la sociedad, para que sean admitidos en la próxima Asamblea General que se celebre.

Adquiere también la condición de **Miembro de número** toda persona debidamente registrada que asista al Congreso anual de la SIBB, de forma automática hasta dos meses después de la siguiente Asamblea General.

Serán **Miembros Eméritos** aquellos miembros de número que constando adscritos en la sociedad con una antelación mínima de cinco años, procedan a jubilarse de su actividad profesional principal y lo soliciten según modelo normalizado, expresamente al Presidente de la Junta Directiva para su aprobación y nombramiento en la próxima Asamblea General que se celebre. El nombramiento como miembro emérito comporta la exoneración en el pago de las cuotas, derramas y otras aportaciones que correspondan a los demás miembros de la sociedad.

ARTÍCULO 12. Serán **Miembros Corporativos** aquellas personas jurídicas de derecho público o privado que deseen colaborar en la consecución de los fines de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales, previa solicitud al presidente de la sociedad, para que sean admitidos en la próxima Asamblea General que se celebre.

ARTÍCULO 13. Podrán ser **Miembros Corresponsales** aquellas personas miembros de la Sociedad y residentes en el extranjero que por sus méritos o circunstancias en el campo de la biomecánica o de los biomateriales sean juzgadas pertinentes su integración en la próxima Asamblea General, a propuesta de la Junta Directiva.

ARTÍCULO 14. Se adquiere la condición de **Miembro de Número o Corporativo** mediante solicitud, según modelo normalizado, dirigida al Presidente de la sociedad, siendo la admisión resuelta por la Asamblea General a propuesta de la Junta Directiva. El nuevo miembro abonará la cuota anual que le corresponda y se comprometerá a cumplir con los Estatutos de la Sociedad.

ARTÍCULO 15. Todos los asociados ostentarán los siguientes derechos:

- A. A participar en las actividades de la Asociación y en los órganos de gobierno y representación, a ejercer el derecho de voto, así como a asistir a la Asamblea General, de acuerdo con estos estatutos.
- B. A ser informado acerca de la composición de los órganos de gobierno y representación de la Asociación, de su estado de cuentas y del desarrollo de su actividad.
- C. A ser oído con carácter previo a la adopción de medidas disciplinarias contra él y a ser informado de los hechos que den lugar a tales medidas, debiendo ser motivado o justificado el acuerdo que, en su caso, le imponga la sanción.
- D. A impugnar los acuerdos de los órganos de la Asociación que estime contrarios a la Ley o a los Estatutos vigentes.
- E. A la posibilidad de recibir asesoramiento científico en las tareas o trabajos que pueda emprender dentro de las actividades de la Asociación.

ARTÍCULO 16. Son deberes de los asociados:

- A. Compartir las finalidades de la Asociación y colaborar para la consecución de las mismas.
- B. Pagar las cuotas, derramas y otras aportaciones que, con arreglo a los Estatutos, puedan corresponder a cada socio.
- C. Cumplir el resto de obligaciones que resulten de las disposiciones estatutarias.
- D. Acatar y cumplir los acuerdos válidamente adoptados por los órganos de gobierno y representación de la Asociación.

ARTÍCULO 17.- Se pierde la condición de miembro por:

- A. Defunción
- B. Renuncia voluntaria
- C. Falta de pago de la cuota establecida a fecha de la realización de la Asamblea General. D. Por acuerdo adoptado por la Asamblea General o a propuesta de la Junta Directiva, previo expediente disciplinario tramitado por ésta última, en el que deberá ser oído el socio afectado.

Corresponderá a la Junta Directiva acordar la pérdida de la condición de miembro por la causa establecidas en el apartado C.) anterior.

La pérdida de la condición de miembro no dará derecho a percibir participación patrimonial alguna por las aportaciones económicas que se hubieran realizado

CAPÍTULO III. DE LOS ÓRGANOS DE GOBIERNO.

ARTÍCULO 18.- La sociedad estará regida por la **Asamblea General de todos los miembros como órgano supremo, por la Junta Directiva como órgano ejecutivo y por el senado.** Todos los cargos directivos se elegirán mediante sufragio libre y secreto entre los **Miembros de número** con un mínimo de un año de antigüedad. El Senado es el máximo órgano consultivo de la Sociedad, estará compuesto por todos los ex Presidentes de la misma (salvo el Presidente saliente, que pasará a formar parte del Senado cuando concluya su cargo de saliente en la Junta Directiva), y será presidido por un senador de elección entre los miembros del propio Senado. Los Senadores no pueden formar parte de la Junta Directiva.

La organización interna y el funcionamiento de la Asociación estarán inspirados en los principios de democracia y respeto al pluralismo.

ARTÍCULO 19.- La Asamblea General es el órgano supremo de la sociedad y está formada por todos sus miembros. Se reunirá como mínimo una vez al año, coincidiendo con el Congreso científico de la sociedad. Se podrá convocar en cualquier momento por acuerdo del Secretario, de la Junta Directiva, o cuando lo soliciten un número de asociados no inferior al diez por ciento.

La convocatoria de la Asamblea General se efectuará mediante publicación en la web de la Asociación y/o envío de un mail con una antelación mínima de quince días, en la que se indicará el lugar, fecha y hora de celebración en primera y en segunda convocatoria, caso de ser necesario, y el orden del día a tratar.

ARTÍCULO 20.- Todos los miembros tendrán derecho a ser oídos en la Asamblea General pero se reserva el derecho a voto solamente a los miembros: fundadores, honorarios, de número, y corresponsales al corriente del pago de las anualidades en curso. Se considera válido el voto delegado realizado a favor de otro miembro de la sociedad, siempre que dicha delegación haya sido otorgada por escrito, debidamente firmada y con la identificación con fotocopia del DNI de quien la otorgue. Actuarán de Presidente y Secretario de la Asamblea General quienes ocupen dicho cargo en la Junta Directiva. Los debates y votaciones serán dirigidos por el Presidente de la Asamblea, debiendo el Secretario levantar el Acta de su celebración que sin perjuicio de su ejecutividad se aprobara en la próxima asamblea general

ARTÍCULO 21.- La Asamblea General quedará válidamente constituida cuando en primera convocatoria asista, presente o representada debidamente, un tercio de los asociados. En segunda convocatoria se considerará válida cualquiera que sea el número de asistentes. **Entre la primera y la segunda convocatoria deberá existir un lapso de tiempo mínimo de una hora.**

Los acuerdos de la Asamblea General se adoptarán por mayoría simple de las personas presentes o representadas. Por excepción al anterior principio, se exigirá el voto afirmativo de la mayoría absoluta de los presentes o representados para acordar:

- A. La disolución de la Asociación.
- B. La modificación de los estatutos.
- C. La disposición o enajenación de bienes inmuebles.
- D. La remuneración de los miembros de la Junta Directiva o de cualquier representante que se designase.

ARTÍCULO 22. La Asamblea General es el órgano supremo de decisión de la Asociación. **Entre sus competencias** se encuentran:

- A. Examinar, discutir y aprobar si procede, el balance, las cuentas y las memorias presentadas por la Junta Directiva, así como aprobar el presupuesto del año siguiente.
- B. Proceder a la elección y nombramiento de los miembros de la Junta Directiva, administradores y representantes.
- C. Fijar las cuotas de los asociados.
- D. Aportar, discutir y aprobar los planes generales, celebración de congreso y reuniones científicas.
- E. Contemplar la necesidad de creación de las comisiones que se juzguen pertinentes para su desarrollo más idóneo de sus actividades y fines.
- F. La modificación de Estatutos.
- G. La disolución de la Asociación.
- H. La creación, reglamentación y otorgamiento de Premios por la realización de trabajos o servicios de carácter científico sobre temas relacionados con los objetivos de la Asociación.

ARTÍCULO 23. La Junta Directiva está formada por el Presidente, el Presidente Electo, el Secretario, el Tesorero, el Bibliotecario, un número de Vocales que podrá oscilar entre cuatro y diez, así como el Director de la Revista que edita la Asociación.

ARTÍCULO 24. El Presidente Efectivo es nombrado por un periodo de dos años. Al cabo de los cuales pasará a ocupar su cargo el **Presidente Electo**. El **Presidente saliente** continuará como Vocal dos años.

ARTÍCULO 25. El **Presidente Electo** es elegido por un periodo de dos años, al cabo de los cuales pasará a ocupar la **Presidencia efectiva** y se procederá a la **elección del sustituto del presidente electo**.

ARTÍCULO 26. Los Vocales serán elegidos por un periodo de dos años, pudiendo ser reelegidos indefinidamente.

ARTÍCULO 27. El Secretario, el Tesorero, el Bibliotecario y el Director de la Revista, serán designados por un periodo de tres años, pudiendo ser reelegidos indefinidamente.

ARTÍCULO 28. El Presidente Efectivo y el Presidente Electo no podrán ser elegidos para el cargo en periodos de tiempo sucesivos.

ARTÍCULO 29. La elección de los miembros de la Junta Directiva se hará por votación de la Asamblea General por mayoría de los dos tercios entre los asistentes en primera votación y por mayoría simple en la segunda, de entre los candidatos presentados en Secretaría para los diferentes cargos. Dicha presentación se realizará desde la fecha de la Convocatoria de la Asamblea y la víspera de la celebración de la Asamblea General.

ARTÍCULO 30. Son misiones de la Junta Directiva:

- A. Dirigir, impulsar y vigilar el cumplimiento de los fines de la Asociación con sujeción a lo acordado en la Asamblea General.
- B. Ostentar la representación de la Asociación.
- C. Elaborar las memorias anuales, balances económicos y presupuestos.
- D. Proponer a la Asamblea General las normas de contratación del personal técnico y administrativo para los servicios necesarios.
- E. Velar por el cumplimiento de la legislación vigente y en especial en lo relativo a la Protección de Datos de los miembros de la Asociación.
- F. Podrá nombrar Apoderados o Representantes, a los cuales podrá conferir un cuerpo de facultades.

ARTÍCULO 31. La Junta Directiva se reunirá por lo menos una vez al año, coincidiendo con el Congreso de la sociedad y a instancias de su Secretario, cuando éste lo considere oportuno, o cuando lo solicite el Presidente o un número de miembros de la Junta igual a la mitad de sus componentes.

La Junta Directiva quedará válidamente constituida cuando haya sido debidamente convocada, con independencia del número de asistentes a la misma.

Las decisiones de la Junta Directiva se adoptarán por mayoría de votos de los asistentes a la reunión y de los representados. Todo miembro de la Junta podrá hacerse representar por otro miembro de la misma.

De todas las reuniones se levantará el acta correspondiente que firmará el Secretario con el visto bueno del Presidente.

ARTÍCULO 32. Las **atribuciones del Presidente Efectivo** de la sociedad serán:

- A. Presidir las reuniones de la Asamblea General y de la Junta Directiva.
- B. Velar por el cumplimiento de los acuerdos adoptados.
- C. Ostentar la representación visible de la sociedad donde fuera necesario.

ARTÍCULO 33. Las **atribuciones del Presidente Electo** de la sociedad serán:

- A. Asistir a las Juntas Directivas.
- B. Sustituir al Presidente en sus atribuciones durante sus ausencias.
- C. Aquellas que se le concedan por la Junta Directiva o la Asamblea General.

ARTÍCULO 34. Serán **atribuciones del Secretario:**

- A. Ser depositario de la sede social.
- B. Llevar el registro de miembros y los libros de actas.
- C. Llevar constancia documental de cuantas reuniones se celebren en la sociedad, certificando con el Vº Bº del Sr. Presidente, toda clase de acuerdos que se adopten en la Asamblea General o en la Junta Directiva.
- D. Autorizar el pago y disposiciones económicas siempre refrendadas por la firma del Presidente y del Tesorero.
- E. Enviar los avisos a los miembros de la Sociedad para que hagan efectivo el pago de la cuota anual correspondiente.
- F. Convocar las reuniones de la sociedad y de la Junta Directiva conforme señalan los estatutos.
- G. Formará parte siempre de todas las comisiones que se formen en el seno de la sociedad, en su nombre propio o delegando su participación.
- H. La información a los miembros en general.
- I. El funcionamiento administrativo, recopilación de datos y su sistematización así como la custodia de documentación administrativa.
- J. La redacción de la memoria anual.

ARTÍCULO 35. Serán **atribuciones del Tesorero:**

- A. Dirigir la contabilidad.
- B. Hacerse cargo de las cantidades que se le entreguen.
- C. Mantener a disposición del Secretario, Presidente o Asamblea General cuantos datos referentes a la contabilidad sean exigidos.
- D. Podrá autorizar pagos ordinarios de una cuantía cuyos límites serán determinados por la junta general sin necesitar de autorización de la misma, pero respondiendo siempre de las razones de dichos pagos y dando cuenta al Secretario.

ARTÍCULO 36. Serán **atribuciones de los Vocales:**

- A. Participar en las deliberaciones de la Junta Directiva.
- B. Todas aquellas que le sean encomendadas por la Junta Directiva o la Asamblea General.

ARTÍCULO 37. Serán **atribuciones del Bibliotecario:**

- A. Fomentar e impulsar la facilidad de información entre todos los miembros de la sociedad.
- B. Facilitar el acceso a consultas bibliográficas de los miembros de la sociedad.
- C. La organización y mantenimiento de un servicio de consultas bibliográficas.
- D. La organización y mantenimiento de la biblioteca de la sociedad, **de su página «web», así como la recopilación de los trabajos científicos de los miembros.**

CAPÍTULO IV. REUNIONES CIENTÍFICAS DE LA SOCIEDAD.

ARTÍCULO 38. La Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales celebrará anualmente un Congreso.

ARTÍCULO 39. La fecha y la localidad serán elegidas por mayoría simple de votos entre las propuestas hechas en Asamblea General.

ARTÍCULO 40. Corresponde al Secretario de la sociedad la convocatoria del mismo.

ARTÍCULO 41. El Presidente y el Secretario del Congreso serán Miembros de número de la localidad en la que se celebre el congreso.

ARTÍCULO 42. El Comité Organizador del Congreso de la SIBB informará al Secretario de la SIBB el listado de participantes el día previo a la realización de la Asamblea General.

ARTÍCULO 43. Coincidiendo con el Congreso, celebrarán su reunión correspondiente la Junta Directiva y la Asamblea General.

CAPÍTULO V. RÉGIMEN ECONÓMICO DE LA SOCIEDAD.

ARTÍCULO 43. La sociedad puede contar con el patrimonio propio independiente del de sus miembros y que estará constituido por los bienes de las siguientes fuentes de ingresos:

- A. Las cuotas y aportaciones de los miembros.
- B. Las subvenciones de carácter oficial o extraoficial que se concedan a la sociedad.
- C. Los ingresos obtenidos por los congresos, simposios, cursos seminarios, etc., organizados por la sociedad o por los miembros de ella actuando en su nombre.
- D. Los ingresos obtenidos de la venta de publicaciones científicas y técnicas de la sociedad.
- E. Cualquier otro ingreso por ayudas o aportaciones de cualquier clase, donaciones, créditos, becas, subvenciones, etc., de los que la sociedad pueda ser depositaria.

El Patrimonio o Fondo social de la Asociación queda fijado en el momento de la adaptación de estos Estatutos en la suma de TRES MIL EUROS.

El ejercicio asociativo y económico será anual y se cerrará el día 31 de Diciembre de cada año.

CAPÍTULO VI. DISOLUCIÓN Y LIQUIDACIÓN DE LA SOCIEDAD.

ARTÍCULO 44. La disolución o liquidación de la sociedad se acordará en la Asamblea General con la mayoría establecida por estos Estatutos. Acordada la misma se seguirá el procedimiento siguiente:

- A. A propuesta de la Asamblea General se constituirá una Comisión Liquidadora dotada de las facultades precisas para el cumplimiento de las obligaciones pendientes. Su nombramiento será de carácter permanente hasta que hayan finalizados todas las labores de liquidación. La Comisión Liquidadora estará integrada por un número impar de miembros.
- B. El fondo económico, si lo hubiese, procedente de las existencias monetarias y de la venta de los

bienes mobiliarios e inmobiliarios que la sociedad pudiera poseer, se liquidarán y se donarán a entidades benéficas de ámbito nacional.

- C. Las instalaciones científicas cedidas por los miembros de la sociedad a la misma, serán devueltas a los centros o entidades dedicados a la investigación que la comisión liquidadora estime oportuno.

DILIGENCIA

Los estatutos han quedado redactados de acuerdo a las modificaciones acordadas en la asamblea general celebrada el 16 de Noviembre de 2019.

Representantes de la Sociedad:

Dr. Enrique Navarro Cabello
Presidente Efectivo

Dr. Luis María Rodríguez Lorenzo
Secretario

**COMUNICADO EN RELACIÓN A LA
EDICIÓN 2020 DEL CONGRESO ANUAL DE LA SIBB**

Como consecuencia de la situación actual debida a la epidemia del COVID-19, la Junta Directiva de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales (SIBB) en reunión celebrada el 24 de septiembre del 2020, ha decidido por unanimidad suspender la celebración del XLIII Congreso de la SIBB, Cáceres 2020.

Asimismo, se recuerda que el congreso del año 2021 se celebrará según lo acordado por la última Asamblea en la ciudad de Oporto a la vez que el Congreso Europeo de Biomateriales (ESB).

