

<https://orcid.org/0000-0003-4902-0304>

INGENIERÍA DE TEJIDOS: DESARROLLO DE NUEVO BIOMATERIAL SUSTENTABLE PARA LA REGENERACIÓN DE HUESO

TISSUE ENGINEERING: DEVELOPMENT OF NEW SUSTAINABLE BIOMATERIAL FOR BONE REGENERATION

Aldo Emilio Cortés-Aguilar
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Facultad de Ciencias Biológicas
Licenciatura en Biotecnología
aldo.cortesa@alumno.buap.mx

Resumen

El sistema esquelético de los seres humanos está compuesto por 206 huesos, los cuales a su vez se componen de células como los osteoblastos y osteoclastos, responsables de la remodelación de los huesos y de su capacidad auto-regenerativa. No obstante, en casos de lesiones o enfermedades graves, la capacidad auto-regenerativa del hueso no es suficiente para reparar el daño, por lo que se recurre a métodos clínicos como los injertos de hueso o la ingeniería de tejidos. La ingeniería de tejidos consiste en la combinación de una estructura o andamio 3D, células vivas y factores de crecimiento, que en conjunto forman un complejo que asiste la reparación de un tejido. Los biomateriales empleados para la elaboración de los andamios tienen como característica principal su biocompatibilidad, y se clasifican en naturales y sintéticos, según su origen. Dentro de los biomateriales naturales, algunos de los más estudiados son los de origen marino, provenientes de organismos como esponjas, corales, erizos, moluscos bivalvos y peces. Recientemente, un grupo de investigadores de la Universidad Tecnológica de Nanyang en Singapur, desarrolló un biomaterial híbrido a partir de residuos acuícolas, siendo su producción uno de los primeros procesos sustentables en la ingeniería de tejidos para la regeneración de hueso.

Palabras clave: *Ingeniería de tejidos; biomateriales; biomateriales marinos; regeneración de hueso.*

Abstract

The skeletal system of humans is composed of 206 bones, which in turn are composed of cells such as osteoblasts and osteoclasts, responsible for the remodeling of bones and their self-regenerative capacity. However, in cases of serious injury or illness, the self-regenerative capacity of the bone is not enough to repair the damage, so clinical methods such as bone grafts or tissue engineering are used. Tissue engineering consists of the combination of a 3D structure or scaffold, living cells and growth factors, which together form a complex that assists the repair of tissue. The biomaterials used for the production of scaffolding have as their main characteristic their biocompatibility, and are classified into natural and synthetic, according to their origin. Among the natural biomaterials, some of the most studied are those of marine origin, from organisms such as sponges, corals, urchins, bivalve mollusks and fish. Recently, a group of researchers from Nanyang Technological University of Singapore, developed a hybrid biomaterial from aquaculture waste, its production being one of the first sustainable processes in tissue engineering for bone regeneration.

Keywords: *Tissue engineering; biomaterials; marine biomaterials; bone regeneration.*

El sistema óseo

El sistema esquelético de los seres humanos está compuesto por 206 huesos que desempeñan una serie de funciones de gran importancia, como servir de soporte y protección de los órganos internos, permiten la locomoción en conjunto con los músculos, participan en la producción de células sanguíneas y fungen como reservorio de minerales (Clarke, 2008; Le et al., 2017).

Por su parte, cada hueso está constituido por cuatro componentes esenciales: una bicapa externa denominada periostio que sirve de soporte estructural y como reservorio de células osteoprogenitoras. El tejido óseo, que confiere el aspecto general del hueso y se encuentra entre el periostio y el endostio (sin considerar la médula ósea). El endostio, una fina capa generada a partir del periostio que es atrapado en el interior del hueso

durante su crecimiento aposicional (en diámetro). Y finalmente, la médula ósea, un tejido blando protegido por el resto de los componentes, caracterizado por su capacidad de formar células sanguíneas (Le et al., 2017).

Además de estos componentes, cabe resaltar la importancia de las células óseas, especialmente los osteoblastos (células formadoras de hueso) y osteoclastos (células que deconstruyen el hueso), que son las responsables de uno de los procesos más fascinantes: la remodelación de los huesos. Este proceso, realizado bajo un complejo pero elegante equilibrio entre la actividad de osteoblastos y osteoclastos mediada por la composición de la estructura mineral del hueso (Uskoković et al., 2019) permite que la forma y composición de los huesos se adapte a diferentes factores de estrés, como el crecimiento, la realización de actividad física, el sometimiento a ambientes de gravedad cero y el sufrimiento de lesiones. No obstante, en casos de lesiones o enfermedades graves, la capacidad auto-regenerativa del hueso (Figura 1) no es suficiente para reparar el daño, por lo que se recurre a métodos clínicos como los injertos de hueso o, más recientemente a la ingeniería de tejidos.



Figura 1. Fases de la regeneración del hueso ante una fractura. Modificado de (Ansari, 2019)



La ingeniería de tejidos y la regeneración de hueso

El material empleado para realizar un injerto de hueso debe poseer características muy similares a las del tejido receptor, entre las que destacan la capacidad de producir nuevo hueso (osteogénesis), la capacidad de generar células formadoras de hueso (osteoinducción), el fomento de vascularización en el nuevo tejido (osteokonducción) y la facultad de incorporarse al tejido receptor sin la formación de una capa intermedia de tejido fibroso (Ansari, 2019; Oryan et al., 2014).

El procedimiento clínico por excelencia empleado en la reparación de lesiones de hueso es el autoinjerto, que consiste en trasplantar tejido óseo de una zona diferente a la afectada dentro del mismo individuo, por lo que la compatibilidad es total y el rechazo es prácticamente nulo; sin embargo, este procedimiento tiene varias desventajas, como la posibilidad de dañar la zona donde se cosecha el tejido, riesgos asociados a la intervención quirúrgica adicional (dolor, infecciones, fracturas derivadas de la extracción de hueso) y disponibilidad limitada (Oryan et al., 2014), por lo que su viabilidad disminuye conforme aumenta la gravedad y el tamaño de la lesión.

Por lo anterior, se han buscado alternativas que eliminen o disminuyan las desventajas del autoinjerto, siendo los aloinjertos (trasplantes de tejido entre dos individuos de la misma especie) y xenoinjertos (trasplantes de tejidos entre dos individuos de diferentes especies) las opciones inicialmente exploradas. No obstante, estos tipos de injertos poseen altas probabilidades [tasas] de rechazo y la posibilidad de transmitir enfermedades zoonóticas, en el caso de los xenoinjertos (Oryan et al., 2014), de manera que la búsqueda ha continuado y se ha enfocado en la ingeniería de tejidos.

Los cimientos de la ingeniería de tejidos consisten en la combinación de una estructura o andamio 3D, células vivas y factores de crecimiento, que en conjunto forman un complejo capaz de asistir e inducir la reparación de un tejido (Henkel et al., 2013). Dentro de este contexto, la ingeniería de tejidos aplicada a la regeneración de hueso debe considerar la fuente de células osteoprogenitoras, el uso de factores de crecimiento adecuados que fomenten la formación del hueso y, tal vez el componente más importante, la matriz o andamio que servirá de “molde” y soporte para la construcción del nuevo hueso.

En algunos casos el enfoque de la ingeniería de tejidos otorga mayor relevancia al desarrollo del andamio, mientras que permite que las capacidades regenerativas del hueso receptor se encarguen de la colonización del andamio con nuevo tejido. Mientras tanto, en otros casos, se considera la incorporación de células al andamio previo a la realización del injerto, para lo cual se realizan cultivos de células osteoprogenitoras o células madre mesenquimales obtenidas de médula ósea, músculo esquelético, membrana sinovial e incluso tejido adiposo (Ansari, 2019) o células madre obtenidas de la pulpa de los dientes (Redenski et al., 2021); la incorporación de estas células facilita los procesos de unión y vascularización del injerto.

Por otro lado, para el desarrollo de los andamios se ha planteado el objetivo de obtener una estructura similar a la del hueso (Figura 2), considerando aspectos importantes como la biocompatibilidad, la resistencia mecánica, la porosidad y la tasa[velocidad] de reabsorción del material (Ansari, 2019; Henkel et al., 2013; Oryan et al., 2014) de manera que tengan la capacidad de dirigir la proliferación y diferenciación celular (Henkel et al., 2013). Para esto se han empleado materiales de origen natural y sintéticos (o su combinación) que cumplan con las cualidades antes mencionadas.

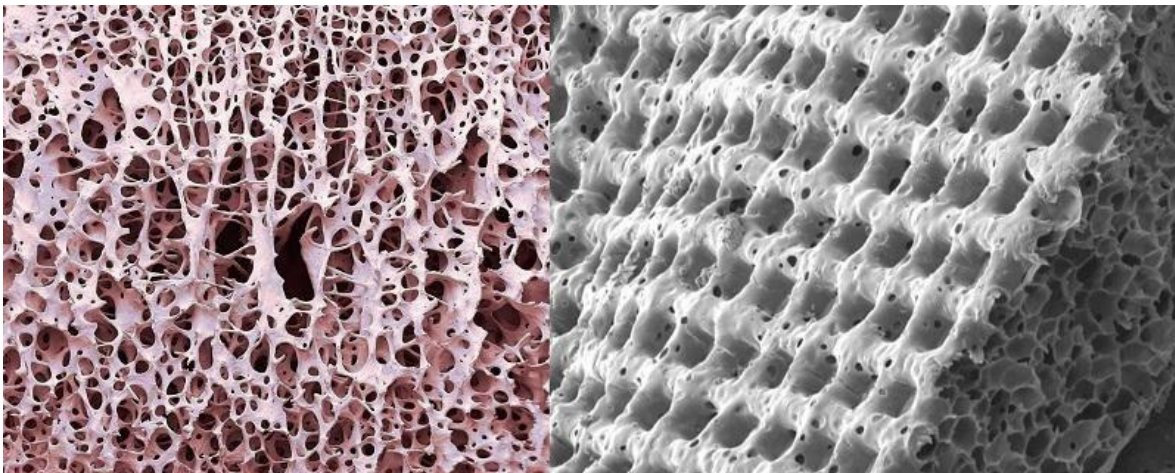


Figura 2. Comparación de la microestructura del hueso esponjoso (izquierda) (Steve Gschmeissner) con un andamio de polímeros elaborado para la ingeniería de tejidos (derecha) (tomado y modificado de Koch Institute Public Galleries).

Biomateriales y dónde encontrarlos

El principal punto de referencia al momento de escoger un material adecuado para la elaboración de un andamio es la estructura del propio hueso, por lo que uno de los primeros materiales empleados fue el hueso desprovisto de células mediante procesos químicos y físicos (Zhang et al., 2009). Sin embargo, además de las características biológicas, es ideal que un material apropiado para la elaboración de los andamios sea accesible tanto económicamente como en disponibilidad y que su aplicación sea lo más directa posible (es decir, eliminando la necesidad de procesar el material antes de la construcción del andamio), razón por la que se ha explorado el campo de los biomateriales.

Los biomateriales tienen como característica principal su biocompatibilidad (interactúan con materia biológica sin desencadenar respuestas inmunológicas) y dependiendo su origen se clasifican en sintéticos y naturales.

Los biomateriales sintéticos son aquellos diseñados por el hombre, y en el caso de la regeneración de hueso, es necesario que cumplan con las mismas características que permiten el desarrollo de nuevo tejido (aunque inicialmente se empleaban principalmente materiales cerámicos y aleaciones de metales para “rellenar” los espacios en las lesiones en lugar de asistir a la formación de nuevo tejido (Henkel et al., 2013)). Dentro de este tipo de materiales resaltan los polímeros de ácido láctico (PLA), de ácido glicólico (PGA) y cerámicas de fosfato de calcio (Oryan et al., 2014).

Por otro lado, los biomateriales naturales son aquellos obtenidos de fuentes biológicas, siendo los más estudiados los biopolímeros capaces de formar redes o estructuras porosas, como el colágeno, alginato, quitosano, celulosa y elastina, y aquellos minerales que son componentes naturales del hueso, como hidroxapatita y fosfatos de calcio (Oryan et al., 2014; Uskoković et al., 2019).

A pesar de la incidencia de los biomateriales sintéticos para la elaboración de andamios en la ingeniería de tejidos, es inevitable profundizar en nuevos biomateriales naturales, ya que la naturaleza siempre crea los diseños más eficientes (aunque no perfectos) para solucionar los problemas biológicos a los que nos enfrentamos (Ben-Nissan et al., 2019),

siendo la vida marina una de las fuentes más ricas e inexploradas de biomateriales aplicables a la ingeniería de tejidos y la regeneración de hueso.

Biomateriales marinos

Muchos de los organismos marinos se cuentan entre las formas de vida más antiguas, y aun así, la gran mayoría sigue aportando valiosa información y recursos para la humanidad. Entre estos recursos encontramos a los biomateriales. Organismos como las esponjas, corales, erizos y moluscos bivalvos son una fuente rica de biomateriales minerales (Figura 3), como hidroxapatita y fosfatos y carbonatos de calcio, así como de modelos altamente eficientizados para la formación de estructuras (exoesqueletos) a partir de estos minerales (Ben-Nissan, 2014; Ben-Nissan et al., 2019). Además, algunos de estos organismos (principalmente las esponjas) junto a diversos tipos de peces, algas, medusas y crustáceos son también una fuente de biopolímeros como colágeno, alginato, quitina y quitosano (Bermueller et al., 2013; Lalzawmliana et al., 2019; Parisi et al., 2019; Raftery et al., 2016).

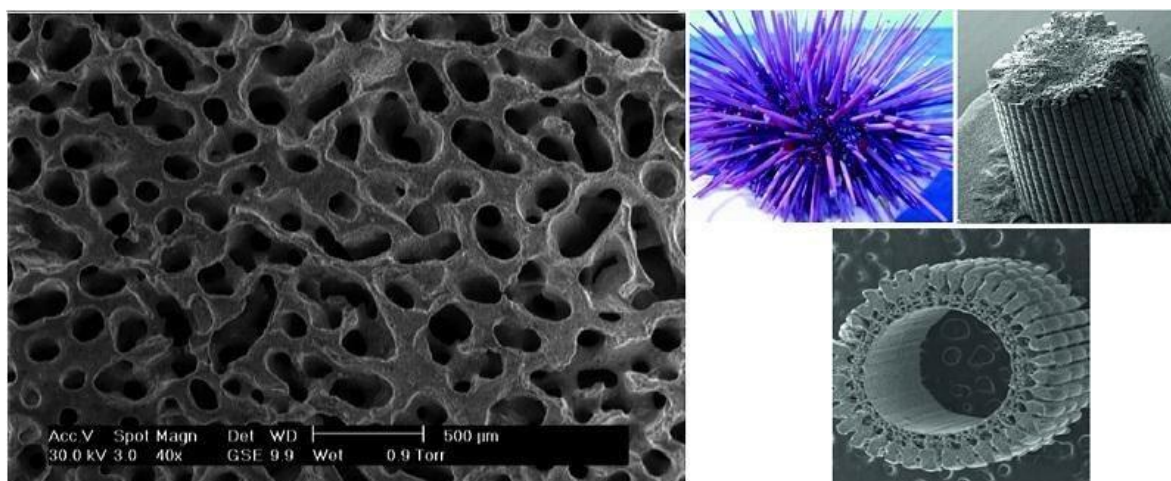


Figura 3. Estructura natural del coral mostrando los diferentes poros y su arquitectura (izquierda) y un erizo de mar acompañado de micrografías de la estructura de sus espículas (derecha). (Ben-Nissan et al., 2019)

No obstante, a pesar de las similitudes de estos biomateriales con los componentes de los huesos, ninguno cumple con todas las características (osteoconductividad, osteoinductividad, osteogénesis, resistencia mecánica, velocidad adecuada de reabsorción) necesarias para realizar la regeneración de hueso por su cuenta, por lo que

se han formulado combinaciones de estos biomateriales para poder desarrollar un andamio que cumpla con la mayoría de estas características.

Por ejemplo, el colágeno marino posee una rápida velocidad de degradación pero baja resistencia mecánica, lo que lo vuelve útil para regenerar cartílago y tejidos blandos pero poco ideal para la regeneración de grandes porciones de hueso (Bermueller et al., 2013), por lo que para este fin se han desarrollado andamios de colágeno con hidroxiapatita (Parisi et al., 2019) y colágeno con quitosano (Raftery et al., 2016), los cuales han demostrado una mejora substancial en la capacidad de permitir el desarrollo de las células, vascularización y regulación de la tasa de reabsorción. Por otro lado, otros grupos de investigación han aprovechado la flexibilidad del quitosano junto con las mejores propiedades mecánicas de la hidroxiapatita para formar andamios con propiedades más cercanas a las del hueso y, por tanto, viables para su regeneración (Lee et al., 2014; Zou et al., 2021).

La innovación: ingeniería de tejidos sustentable

Muchos grupos de investigación han logrado extraer biomateriales de origen marino a partir de restos fósiles, evitando dañar a la biodiversidad marina (Ben-Nissan et al., 2019), sin embargo, la utilización de estructuras de especies en riesgo o peligro de extinción representa un gran problema para la disponibilidad de biomateriales para el área biomédica, de manera que, además de enfrentarse a la búsqueda de un biomaterial adecuado, los investigadores han tenido que comenzar a buscar estrategias para obtenerlos sin generar un impacto negativo en la biodiversidad o el ambiente.

En abril del presente año, un grupo de investigadores de la Universidad Tecnológica de Nanyang (NTU), Singapur dio el primer paso a un nuevo enfoque en la ingeniería de tejidos, generando un biomaterial para la regeneración de hueso a partir de los desperdicios derivados de la acuicultura.

Este biomaterial híbrido está compuesto por tropocolágeno extraído de la piel de la rana toro americana (*Rana catesbeiana*) (Figura 4A) e hidroxiapatita extraída de las escamas del pez cabeza de serpiente gigante (*Channa micropeltes*) (Figura 4B), y ha demostrado ser biocompatible, tener muy buenas propiedades osteoconductoras y alta porosidad, permitiendo un buen desarrollo celular en los ensayos *in vitro*. No obstante, el valor

añadido de este biomaterial es que soluciona un problema de contaminación por residuos en Singapur, ya que anualmente se consumen alrededor de 100 millones de kilogramos de piel de rana y pescado, haciendo de sus desechos derivados dos de los principales contaminantes del país. (Wang et al., 2021).



Figura 4. Rana toro americana (A) y pez cabeza de serpiente gigante (B). El biomaterial fue producido a partir de los residuos derivados del consumo de estas especies.

El siguiente paso del grupo es la realización de los estudios *in vivo* para probar la eficacia y desarrollo del biomaterial una vez colocado en el tejido receptor, y en caso de obtener resultados exitosos, lo siguiente es mejorar y estandarizar el proceso de obtención del biomaterial para cerrar el ciclo consumo – desecho – producto.

Conclusión

El biomaterial desarrollado por el grupo de investigadores de Singapur es el primer ejemplo de un proceso sustentable en el campo de la ingeniería de tejidos para la regeneración de hueso, y al que seguramente le seguirán otros en los años venideros. No obstante, aún queda mucho campo por explorar, como el diseño de técnicas de regeneración que posean el mismo grado de eficiencia que los modelos naturales y el mejoramiento de las micro y nanoestructuras de los andamios a través de la implementación de la impresión 3D, que, aunado al enfoque del desarrollo sustentable, marca el inicio de una nueva etapa en la investigación de la ingeniería de tejidos.

Agradecimientos

Se agradece cordialmente a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y al Dr. Enrique González Vergara por la guía durante la elaboración de este manuscrito.

Referencias

- Ansari, M. (2019). Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies. *Progress in Biomaterials*, 8(4), 223–237. <https://doi.org/10.1007/s40204-019-00125-z>
- Ben-Nissan, B. (2014). Biomimetics and marine materials in drug delivery and tissue engineering: From natural role models to bone regeneration. *Key Engineering Materials*, 587, 229–232. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.587.229>
- Ben-Nissan, B., Choi, A. H., & Green, D. W. (2019). *Marine Derived Biomaterials for Bone Regeneration and Tissue Engineering: Learning from Nature*. Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8855-2_3
- Bermueller, C., Schwarz, S., Elsaesser, A. F., Sewing, J., Baur, N., Von Bomhard, A., Scheithauer, M., Notbohm, H., & Rotter, N. (2013). Marine collagen scaffolds for nasal cartilage repair: Prevention of nasal septal perforations in a new orthotopic rat model using tissue engineering techniques. *Tissue Engineering - Part A*, 19(19–20), 2201–2214. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0650>
- Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 3 Suppl 3, 131–139. <https://doi.org/10.2215/CJN.04151206>
- Henkel, J., Woodruff, M. A., Epari, D. R., Steck, R., Glatt, V., Dickinson, I. C., Choong, P. F. M., Schuetz, M. A., & Hutmacher, D. W. (2013). Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions-A 21st Century Perspective. *Bone Research*, 1, 216–248. <https://doi.org/10.4248/BR201303002>
- Lalzawmliana, V., Anand, A., Mukherjee, P., Chaudhuri, S., Kundu, B., Nandi, S. K., & Thakur, N. L. (2019). Marine organisms as a source of natural matrix for bone tissue engineering. *Ceramics International*, 45(2), 1469–1481. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.10.108>
- Le, B. Q., Nurcombe, V., Cool, S. M. K., van Blitterswijk, C. A., de Boer, J., & LaPointe, V. L. S. (2017). The Components of bone and what they can teach us about regeneration. *Materials*, 11(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ma11010014>
- Lee, J. S., Baek, S. D., Venkatesan, J., Bhatnagar, I., Chang, H. K., Kim, H. T., & Kim, S. K. (2014). In vivo study of chitosan-natural nano hydroxyapatite scaffolds for bone tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 360–366. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.053>
- Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A., & Maffulli, N. (2014). Bone regenerative medicine: Classic options, novel strategies, and future directions. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 9(1), 1–28. <https://doi.org/10.1186/1749-799X-9-18>
- Parisi, J. R., Fernandes, K. R., Avanzi, I. R., Dorileo, B. P., Santana, A. F., Andrade, A. L., Gabbai-Armelin, P. R., Fortulan, C. A., Trichês, E. S., Granito, R. N., & Renno, A. C. M. (2019). Incorporation of Collagen from Marine Sponges (Spongin) into Hydroxyapatite Samples: Characterization and In Vitro Biological Evaluation. *Marine Biotechnology*, 21(1), 30–37. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9855-z>
- Raftery, R. M., Woods, B., Marques, A. L. P., Moreira-Silva, J., Silva, T. H., Cryan, S. A., Reis, R. L., & O'Brien, F. J. (2016). Multifunctional biomaterials from the sea: Assessing the effects of chitosan

incorporation into collagen scaffolds on mechanical and biological functionality. *Acta Biomaterialia*, 43, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.07.009>

Redenski, I., Guo, S., Machour, M., Szklanny, A., Landau, S., Kaplan, B., Lock, R. I., Gabet, Y., Egozi, D., Vunjak-Novakovic, G., & Levenberg, S. (2021). Engineered Vascularized Flaps, Composed of Polymeric Soft Tissue and Live Bone, Repair Complex Tibial Defects. *Advanced Functional Materials*. <https://doi.org/10.1002/adfm.202008687>

Uskoković, V., Janković-Častvan, I., & Wu, V. M. (2019). Bone Mineral Crystallinity Governs the Orchestration of Ossification and Resorption during Bone Remodeling. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 5(7), 3483–3498. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00255>

Wang, J. K., Çimenoğlu, Ç., Cheam, N. M. J., Hu, X., & Tay, C. Y. (2021). Sustainable aquaculture side-streams derived hybrid biocomposite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, 126, 112104. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112104>

Zhang, A. Y., Bates, S. J., Morrow, E., Pham, H., Pham, B., & Chang, J. (2009). Tissue-engineered intrasynovial tendons: Optimization of acellularization and seeding. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 46(4), 489–498. <https://doi.org/10.1682/JRRD.2008.07.0086>

Zou, Z., Wang, L., Zhou, Z., Sun, Q., Liu, D., Chen, Y., Hu, H., Cai, Y., Lin, S., Yu, Z., Tan, B., Guo, W., Ling, Z., & Zou, X. (2021). Simultaneous incorporation of PTH(1–34) and nano-hydroxyapatite into Chitosan/Alginate Hydrogels for efficient bone regeneration. *Bioactive Materials*, 6(6), 1839–1851. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.11.021>