

TENDENCIAS EN EL DESARROLLO DE MATRICES COMPUESTAS PARA REPARACIÓN ÓSEA.

TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF COMPOSITE MATRIX FOR BONE REPAIR.

Margarita Hernández Escalona¹, Yaymarilis Veranes Pantoja¹, Loreley Morejón Alonso², Julio César Llópiz Yurell².

¹ Centro de Biomateriales de la Universidad de la Habana. Cuba.

² Facultad de Química de la Universidad de La Habana. Cuba.

e-mail: mheiomat.uh.cu

Introducción

En los últimos años, con el aumento y envejecimiento de la población mundial, el número de personas que por diferentes causas están aquejadas de daños en el sistema óseo-articular ha ido en aumento. La existencia de enfermedades que producen defectos en el sistema óseo muscular con dimensiones que sobrepasan su capacidad de restauración o requieren de la eliminación quirúrgica del tejido dañado; así como la incidencia de traumas en los que ocurre la destrucción parcial o total del sistema óseo con lo que quedan grandes brechas, hace necesario el uso de sustitutos para reparar el órgano y restituir su función.^{1,2}

Tradicionalmente se ha utilizado el implante de tejido autólogo sano (autoinjerto), procedimiento que no implica dificultades en cuanto a la respuesta inmunológica ni contradicciones éticas, siendo éstas sus principales ventajas; sin embargo, la cosecha de tejido requiere una incisión quirúrgica diferente aumentando así la duración de la cirugía, la pérdida de sangre, los riesgos de una infección y además, la imposibilidad de extraer suficiente cantidad de hueso. Otra alternativa es el implante de tejido homólogo, o sea, tejido humano donado en vivo o postmortem. Esta práctica tiene limitaciones dadas por la necesidad de suministrar medicamentos inmuno depresores para evitar el rechazo, la posibilidad de contaminación biológica así como también aspectos éticos, religiosos y legales. Además, también existe la posibilidad de utilizar tejido procedente de otras especies animales, los que constituyen los conocidos como heteroinjertos o xenoinjertos que en los últimos tiempos ha sido seriamente limitada por la aparición de enfermedades como la de las “vacas locas” y la de “Creutzfeldt-Jacob”.

Como se ha visto, los trasplantes en general constituyen una terapia importante pero limitada principalmente por la escasez de órganos donantes. Debido a esto, el desarrollo y aplicación de materiales muy diversos para ser utilizados como implantes permanentes o temporales ha llegado a constituir un área prioritaria de investigación en los países desarrollados con una gran repercusión desde los puntos de vista social y económico. Los biomateriales como implantes, prótesis o dispositivos médicos, se han desarrollado gracias a la disponibilidad de materiales metálicos, cerámicos, poliméricos y compuestos que tienen entre sus ventajas más sobresalientes su disponibilidad, reproducibilidad y adaptación biomecánica¹

Se ha encontrado que metales como el titanio y el tantalio y sus aleaciones, que tienen alta resistencia a la fractura y pueden integrarse al hueso vivo cuando han sido previamente tratados con NaOH y calor, también se ha utilizado el acero y otras aleaciones pero el módulo elástico de estos materiales es superior al del hueso cortical humano y estas diferencias traen problemas en la remodelación del hueso.

En las investigaciones para el desarrollo de implantes óseos tienen gran importancia las bio-cerámicas basadas en ortofosfato de calcio que comprenden materiales poli-cristalinos, vidrios, Vitro-cerámicos.³ Estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado que los ortofosfato de calcio pueden poseer propiedades óseo-inductivas, por lo que representan biomateriales promisorios como matrices para la ingeniería de tejidos, capaces de conducir y modular el comportamiento de las células.⁴ También es conocido el uso de estructuras calcáreas

naturales como la de los corales (carbonato de calcio) que en algunos casos son fosfatados superficialmente, de la zirconia y la alúmina.⁵ Algunas cerámicas tales como el Bioglass[®], la hidroxiapatita sinterizada, y la vitro-cerámica A-W, logran integrarse espontáneamente al hueso vivo. Estos son llamados materiales bioactivos y actualmente son importantes materiales reparadores de tejido óseo en la práctica clínica. También se puede mencionar la fabricación de sustitutos a partir de soportes altamente porosos preparados con polímeros sintéticos biodegradables tales como poli-(ácido glicólico), poli-(ácido láctico), y poli (ácido glicólico-co-ácido láctico).⁶ Sin embargo, estos materiales son pobres en términos de resistencia a la fractura y a la deformación. Resulta, por tanto, más interesante desarrollar materiales compuestos de apatita-polímeros con estructura análoga a la del hueso que muestren propiedades biológicas y mecánicas similares a las del hueso natural⁷.

Por otro lado, la ingeniería de tejidos es una disciplina científica que se está desarrollando vertiginosamente en la actualidad como consecuencia de las implicaciones que en el ámbito médico-quirúrgico, académico e industrial ha tenido desde los puntos de vista investigativo, económico y social. La misma tiene como objetivo la obtención de sustitutos que permitan reparar o reemplazar tejidos y mantener o mejorar la función particular de un órgano dañado. La estrategia de esta disciplina para intervenciones ortopédicas se ha centrado en la utilización de materiales degradables naturales o sintéticos, como soportes para el trasplante de células (estrategia basada en el cultivo de células / *in vitro* / matrices celulares) o como un medio para guiar la regeneración del tejido por células nativas osteogénicas (estrategia conductiva / *in vivo* / matrices a-celulares). Estas estrategias han sido efectivas en la medida en que el soporte provee un ambiente satisfactorio para la formación del entramado celular, la matriz extracelular y la regeneración del tejido. Las características básicas requeridas por estos soportes incluyen degradabilidad, biocompatibilidad, alta relación área superficial/volumen, óseo-conductividad, e integridad mecánica.²

Objetivos

El estudio ha tenido como objetivos la búsqueda, compilación y análisis sistémico de la información generada entorno al desarrollo del sector de los implantes óseos con énfasis en la identificación de las tecnologías emergentes para la obtención de matrices o soportes compuestos para la ingeniería de tejidos en particular, de manera que puedan ser identificadas las tendencias actuales.

Materiales y métodos

Se consultaron como fuentes de información: trabajos científicos publicados en libros y revistas nacionales e internacionales, patentes existentes y tesis de doctorado y maestría. Se realizó el análisis de la información y se organizó atendiendo a tipos y origen de los materiales, métodos de obtención de las matrices y morfología, todo lo cual se refiere como parte de los resultados.

Resultados

Mineralización biomimética.

Con el objetivo de mimetizar el proceso de formación de apatitas biológicas Abe et al.⁸ desarrollaron un método consistente en la inmersión del sustrato en una solución que

simula la parte inorgánica del fluido corporal. Con este método se puede evaluar la bioactividad de diversos materiales, además de haber sido utilizada también para revestir materiales bio-inertes mejorando así su interacción con el tejido óseo. Precisamente, uno de los requisitos que debe cumplir un material para ser utilizado como implante óseo biológicamente activo, es el de permitir la formación de una capa de apatita en su superficie. Entre las ventajas que posee este método se encuentran la de ser realizado a temperatura cercana a 37° C lo que posibilita revestir materiales termosensibles, la posibilidad de mimetizar piezas con geometría compleja; la buena uniformidad y adhesión que presentan los revestimientos y su bajo costo.

Otras soluciones se han desarrollado con el mismo objetivo, por ejemplo la de Ringer⁹, Neuman¹⁰ y la de Kokubo¹¹. Esta última es la que ha sido más utilizada, pues es la que más se aproxima a la composición iónica del plasma y es conocida como plasma artificial o fluido corporal simulado (SBF). Además, el hecho de ser la hidroxiapatita una cerámica bioactiva puede significar una reducción en el tiempo para la integración hueso-implante.

Bastos et al.¹² realizaron un estudio teórico con dos soluciones que simulan el fluido corporal, las soluciones estudiadas fueron la de Kokubo y una solución evaluadora de bioactividad (SAB), propuesta por los autores, y el estudio mostró que ambas soluciones presentaron comportamientos similares. Por esto, los autores sugieren que la solución SAB puede ser una fuerte candidata a ser usada en la precipitación heterogénea de hidroxiapatitas, pues es más simple y más efectiva durante el proceso de formación del revestimiento. Resende¹³ utilizó ambas soluciones para biomimetizar láminas de titanio y pudo comprobar que la SAB recubría a mayor velocidad que la SBF.

Leonor et al.¹⁴ produjeron un sustrato polimérico de polietileno bioactivo por incorporación de grupos funcionales sulfónicos sobre su superficie que fue sumergido en SBF. El sustrato sufrió un incremento inicial del potencial superficial el cual fue atribuido a la incorporación de iones calcio cargados positivamente para formar sulfato de calcio, y después, una subsiguiente disminución fue asignada a la incorporación de iones fosfato cargados negativamente para formar un fosfato de calcio amorfo, el cual puede transformarse eventualmente en apatita.

Andamios o matrices tridimensionales hechos a partir de colágeno biomimeticamente mineralizados exhiben una estructura porosa interconectada y propiedades mecánicas elásticas.^{15, 16} También ha sido estudiada la biomineralización de láminas conformadas a partir de seda, específicamente la proteína conocida como sericina.¹⁷

Un material soporte para hueso del tipo nano-compuesto fue desarrollado a partir de hidroxiapatita/colágeno/poli-ácido láctico por síntesis biomimética que mostró algunas características de hueso natural en la composición primaria y a la microestructura jerárquica.¹⁸

Kawashita et al.¹¹ investigaron la habilidad de formar apatitas de varios tipos de polímeros con o sin grupos carboxílicos (COOH) en fluido corporal simulado (SBF). Entre los carboxilados estudiaron geles de carboximetil quitina y goma gelan, los cuales formaron apatita sobre sus superficies en 3 días cuando fueron previamente tratados con una solución saturada de Ca(OH)₂, y también un gel de alginato de calcio que formó apatita sobre su superficie en 7 días y concluyeron que estos polímeros son candidatos promisorios para obtener composites con estructura similar a la de los huesos por procesos biomiméticos.

Biomateriales basados en almidón han sido propuestos para muchas aplicaciones biomédicas, incluyendo la reparación / sustitución de huesos, relleno de defectos óseos, cementos óseos parcialmente degradables, entre otros. La ruta de modificación superficial mediante tratamiento con una mezcla de KMnO₄/HNO₃ es un simple método para introducir grupos polares. La prueba de bioactividad, realizada en SBF mostró que los

almidones modificados fueron bioactivos al inducir la formación de una capa de fosfato de calcio en su superficie.¹⁹

Un material compuesto naturalmente auto-reforzado, el bambú, fue estudiado por primera vez como material biomédico por Li et al.²⁰ Recientemente, muchos tipos de biomateriales naturales, tales como madera, bambú, celulosa, quitosana y colágeno, han sido utilizados como plantillas para duplicar la estructura tridimensional compleja del hueso natural. La mazorca de maíz que está principalmente compuesta de celulosa, y posee fibras altamente orientadas y una estructura porosa jerárquicamente tridimensional con poros interconectados, puede permitir el eficaz crecimiento de tejido óseo. Por consiguiente, éste es un prometedor candidato como plantilla polimérica auto-ensamblada para el control del crecimiento de hidroxiapatita y reproducir a híbridos para la reparación de hueso que fue probada en un estudio preliminar. Las mazorcas fueron fosforiladas, y un novedoso nanocomposite de hidroxiapatita–celulosa con estructura jerarquizada fue sintetizado por este método.²¹

Por otra parte, el esqueleto natural de una esponja marina fue seleccionado como un soporte potencial sobre la base de que la hidratación potencial de las fibras, debido a la presencia de canales abiertos e interconectados creados por red fibrosa, el componente de colágeno de las fibras, y la diversidad estructural de la arquitectura fibrosa. El esqueleto de una especie indeterminada de *Spongia*, compuesto de espongina, soportó el crecimiento de células osteo-progenitoras humanas. La abundancia y diversidad estructural de las de esponjas marinas y su potencial como armazón multi-funcional conductiva e inductiva de células indica una prometedora nueva fuente de matrices para la regeneración tisular.²²

También fue iniciada la formación biomimética de apatita a partir de SBF sobre fibras de celulosa bacteriana con el objetivo de sintetizar nanocompuestos porosos con estructura tridimensional. Para optimizar la deposición de cristales de hidroxiapatita, se realizó la modificación superficial de la celulosa.²³ También fue sintetizado y caracterizado un novedoso material consistente en una hidroxiapatita deficiente en calcio biomiméticamente depositado en un gel de celulosa bacteriana obtenido a partir de *Gluconacetobacter hansenii*.²⁴

Hernández et al.²⁵ evaluaron la mineralización biomimética de láminas de alginato de sodio y *Aloe vera* utilizando las soluciones SBF y SAB, los resultados mostraron que la primera semana de incubación es determinante para la incorporación de calcio y fósforo en las matrices estudiadas y en ambos casos se detectó la formación de hidroxiapatita carbonatada, además, de que la deposición mineral en SBF fue más marcada para las muestras de alginato, mientras que las de aloe respondieron mejor a la mineralización biomimética en presencia de SAB; las láminas de alginato fueron obtenidas en este caso por moldeo con solvente.

Entre los métodos para obtener matrices sólidas, compuestas o no, son usados diferentes técnicas de hilado con lo que es posible obtener micro y nano-fibras y con ellas esponjas que pueden actuar como matrices soportes.^{26,27} Hay otros métodos en los que tanto el diseño, como la fabricación están asistidos por computadora (CAD-CAM) y que permiten obtener matrices con la geometría que corresponda, de manera específica, al defecto por reparar. Esta tecnología permite la rápida obtención de prototipos o de formas libres sólidas con la topografía y porosidad deseadas.^{28, 29, 30} No obstante a que estas matrices son realizadas a la medida, con las ventajas que de ello se derivan, también han ganado espacio los biomateriales inyectables, cuya inserción en el lugar de la afección se realiza con trauma mínimo a través de jeringuillas. Salgado et al.³¹ prepararon un gel inyectable compuesto por una blanda de poli-caprolactona y ácido cebasoico, que resultó biocompatible y presenta una adecuada velocidad de degradación; mientras que Munarin et al.⁹ obtuvieron microesferas de pectina modificadas con RGD, péptido que favorece la

adhesión y proliferación de osteoblastos; la formulación inyectable permitió el desarrollo celular entre las microesferas, su diseminación y organización en estructuras 3D produciendo una matriz extracelular mineralizada.

El dopado.

Por otra parte, ha sido comprobado mediante diferentes estudios que la presencia de ciertos iones y compuestos estimulan la deposición de hidroxiapatita sobre diversos soportes. Así, por ejemplo, se observó que la evolución de la capa de apatita en la superficie de un cemento de Si-HA es más rápida que en otro fraguado sin Si cuando fueron sumergidos en SBF³². Bandyopadhyay y col.³³ estudiaron las propiedades físicas, mecánicas y biológicas de cerámicas compactas de β fosfato tri-cálcico (TCP) preparado con la adición de los dopantes MgO, ZnO, y SiO₂ en varias combinaciones. Las muestras dopadas con MgO, SiO₂ (1 % p), y SiO₂ (5 % p) separadamente no alteraron su densificación, sin embargo, ZnO (0.25 %p) disminuyó la densidad del TCP sinterizado. Todas las composiciones dopadas binarias y ternarias mostraron un incremento en la densidad comparadas con el TCP puro. Ensayos *In vitro* con células OPC1 mostraron que todos los materiales fueron bio-compatibles y no tóxicos. Experimentos específicos de adhesión, proliferación y diferenciación mostraron que los dopantes desempeñan un significativo *rol* en el sentido de mejorar la interacción célula –material. Otro estudio realizado con fosfato tricálcico dopado con Zn y Si mostró que con el aumento de las concentraciones de los iones disminuye la velocidad de disolución y que la presencia del Zn inhibe la re-precipitación de hidroxiapatita de SBF.³⁴

Bandyopadhyay y Bose³⁵ patentaron composiciones bio-reabsorbibles y biocompatibles para la bioingeniería, la restauración o regeneración de tejido o hueso, que comprenden un material soporte tridimensional poroso o no, basado en cerámicas de fosfato de calcio que tienen por lo menos un dopante seleccionado de iones metálicos u óxidos metálicos dopantes, en donde la composición es suficientemente biocompatible como para proporcionar a las células o tejidos de un andamio reabsorbible en una velocidad de reabsorción controlada por la pérdida de fuerza dependiente de la composición dopante, bajo las condiciones fisiológicas del cuerpo, de fluidos corporales o fluido corporal simulados. Entre los dopantes seleccionados están : Zn²⁺, Mg²⁺, Si²⁺, Na⁺, K⁺, Sr²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺/Fe²⁺, Ag⁺, Ti⁴⁺, CO₃²⁻, F⁻, MgO, ZnO, NaF, KF, FeO/Fe₂O₃, SrO, CuO, SiO₂, TiO₂, Ag₂O y CaCO₃.

Por otra parte, Ahmed et al.³⁶ investigaron composites reabsorbibles compuestos por una matriz de PLA reforzada con fibras de vidrio de fosfato dopadas con hierro. El estudio reveló que laminas obtenidas con estas fibras no tejidas al azar tuvieron un mejor comportamiento mecánico que las láminas donde las fibras tuvieron una orientación unidireccional. Mohammadi et al.³⁷ estudiaron polímeros biodegradables reforzados con fibras de vidrio de fosfato dopados con SiO₂ y Fe₂O₃ con el interés de se usados en la reparación y regeneración ósea ya que además de incrementar las propiedades mecánicas, también pueden liberar especies bio-inorgánicas. La incorporación aleatoria de las fibras de los vidrios en poli-caprolactona (PCL) provocó un incremento significativo de sus propiedades mecánicas. Sin embargo en SBF se formó brushite solamente en la superficie de PCL-Fe(5)Si(5). Mientras que Song et al.³⁸ se plantearon como objetivo desarrollar una matriz bactericida compuesta por poli(vinil alcohol) recubriendo un soporte de poli-fosfato de calcio dopado con estroncio e impregnado con eritromicina y reportaron que esta matriz única: compuesta, bio-active y multi-funcional tiene potencial para la liberación controlada de relevantes drogas para ingeniería de tejido óseo.

Otros métodos para obtener materiales compuestos.

La mezcla de la fase inorgánica con soluciones coloidales y también con geles de polímeros hidrosolubles^{39,40} ha permitido la preparación de matrices compuestas, por

ejemplo: el uso de polímeros naturales provenientes de fuentes animales de obtención como: los colágenos, los polisacáridos del tipo glucosaminoglucanos (ácido gularónico y sulfatos de condroitina), quitosano^{41, 42} aunque es conocido el debate que se mantiene sobre los requisitos de selección de las fuentes animales de materias primas, su manipulación y tratamiento debido a los riesgos asociados de contaminación y transmisión de enfermedades a que se está expuesto a través de uso, es por esto que se desvía la atención hacia otras fuentes en el reino vegetal y a su modificación química para obtener materiales mimetizados.⁴³

El campo eléctrico también ha sido utilizado para lograr el recubrimiento de placas e implantes de titanio con hidroxiapatita, uno de los métodos es el electrolítico que consiste en la aplicación de una diferencia de potencial entre un ánodo de platino y un cátodo de titanio (placa a ser recubierta) sumergidos en una solución electrolítica rica en iones Ca^{2+} y PO_4^{3-} ; con este método se obtiene una capa de monetita que después se transforma en hidroxiapatita a través de su inmersión en una solución alcalina de NaOH. Este proceso es simple y barato.⁴⁴

También han sido recubiertas placas de titanio por electroforesis, usando dicha placa como cátodo y un ánodo de platino en una celda electroforética con los electrodos posicionados a 40 mm y una suspensión de hidroxiapatita en etanol, el proceso fue llevado a cabo aplicando 24 V por 3 min⁴⁵.

Ha sido reportada que la carboximetil quitosana puede nuclear iones metálicos incluyendo Ca^{2+} . Por consiguiente, por atracción de los iones calcio se espera promover la precipitación de fosfatos de calcio (Ca-P) tanto *in vitro* como *in vivo*. Los resultados obtenidos mostraron que es posible preparar híbridos de carboximetil quitosana / fosfato de calcio aplicando un nuevo método de co-precipitación auto-catalítica utilizando un novedoso baños oxidante y ácido.⁴⁶

Por otra parte, Brighton y col.⁴⁷ expusieron cultivos de células óseas MC3T3-E1 a acoplamiento capacitivo, acoplamiento inductivo o campos electromagnéticos combinados en las intensidades de campo apropiadas durante treinta minutos y dos, seis y veinticuatro horas y determinaron el contenido de ADN de cada placa de cultivo. Otros cultivos de células óseas MC3T3-E1 fueron expuestos a acoplamiento capacitivo, acoplamiento inductivo o campos electromagnéticos combinados durante dos horas en presencia de varios inhibidores de la transducción de señales, con o sin estímulo eléctrico, y se determinó el contenido de ADN de cada placa de cultivo. Las tres señales produjeron un aumento significativo en el contenido de ADN por placa comparado frente a los controles en todos los tiempos ($p < 0,05$), pero únicamente la exposición al acoplamiento capacitivo resultó en una producción de ADN significativa y de aumento constante en cada período de tiempo después de los treinta minutos.

Actualmente, han tomado auge las investigaciones relacionadas con el estudio de los procesos de electroporación, técnica empleada para introducir moléculas en las células a través de la membrana extracelular mediante la aplicación de un campo eléctrico por corto tiempo pero de alta intensidad. Este proceso es crucial para ciertas aplicaciones médicas y biotecnológicas tales como la liberación de drogas, partículas y transferencia de genes. Los modelos de membranas han evolucionado desde bi-capas lipídicas empleadas para estudiar el efecto de la composición sobre los procesos de formación de poros hasta sistemas más complejos ternarios y cuaternarios mediante la adición de diferentes tipos de fosfolípidos, colesterol y proteínas. Los resultados muestran que la composición de las membranas puede tener un gran efecto sobre el potencial requerido para formar poros en las membranas⁴⁸.

Recubrimientos de apatita carbonatada depositados electrolíticamente⁴⁹ demostraron una mayor resistencia, pero, también mostraron ser soportes más débiles para la fijación de

células del estroma de la médula ósea que las capas depositadas biomiméticamente. Por este motivo se estudió la incorporación de quitosana para incrementar la biocompatibilidad de los recubrimientos electrolíticos mientras se mantiene su fortaleza original. La incorporación de quitosana influye en la formación y cristalización de fosfato calcio. Sin embargo, el espesor del recubrimiento y la rugosidad de la superficie disminuyeron con el incremento de la concentración de quitosana. Los recubrimientos híbridos exhibieron un incremento de la velocidad de disolución en solución fisiológica simulada ácida y neutra, pero no hubo diferencias significativas en la fuerza adhesiva y lo más importante es que estos recubrimientos híbridos probaron tener superficies más favorables para las células. También fue desarrollado un método de electro-deposición para la fabricación de filmes compuestos de ácido algínico.⁵⁰ La deposición fue estudiada usando una micro-balanza de cristal de cuarzo. Se logró la fabricación de novedosos filmes nano-compuestos mediante la co-deposición de ácido algínico, hidroxiapatita (HA), TiO₂ y quitosana. La composición pudo ser variada por la variación de la concentración de HA y TiO₂ en las soluciones. El método permite la formación de filmes de diferente espesor en el rango de 0.1–3 mm. Los filmes compuestos mostraron protección a la corrosión de sustratos de aleaciones con memoria en solución fisiológica de Ringer.

Los métodos electroforéticos de deposición (EPD)⁵¹ han sido desarrollados para la fabricación de recubrimientos con composites bioactivos de vidrio–hidroxiapatita (HA)–quitosana y de vidrios bioactivos–HA–alginate. Ambas estrategias han sido utilizadas, basándose en el uso de biopolímeros catiónicos como la quitosana y aniónico como el alginato. El mecanismo de deposición catódica de quitosana está basado en el incremento del pH en la superficie del cátodo, mientras el pH disminuye en la superficie del ánodo disponible para la deposición de alginato. El uso de quitosana y alginato permite la estabilización electrostática y la deposición de vidrio bioactivo y partículas de HA. El método propuesto ofrece la ventaja de la fabricación a temperatura ambiente de recubrimientos compuestos bioactivos que estarán disponibles para aplicaciones biomédicas.

Por otra parte, un nuevo enfoque fue desarrollado para crear hidrogeles a partir de soluciones acuosas de fibrina y mediante la aplicación de un campo eléctrico para efectuar la migración de la proteína y su coagulación en el ánodo (Aluminio o aleaciones de Ti₆Al₄V) de una celda electroquímica. El proceso fue fácilmente controlado por el voltaje aplicado a los electrodos, la concentración de la solución, el tiempo y la distancia entre los electrodos. El grosor del hidrogel pudo ser incrementado hasta 60 mm y dependiendo de las condiciones del proceso, pueden obtenerse recubrimientos porosos o películas compactas. La habilidad de electro-depositar hidrogeles de fibrina para cubrir objetos metálicos con formas y morfología superficial complejas, junto con las propiedades particularmente reconocidas en el campo de la regeneración de hueso y cartílago de la fibrina, hacen que esta sea una técnica promisoriosa para elevar la osteo-integración de prótesis dentales u ortopédicas⁵².

Matziolis et al.⁵³ desarrollaron un bio-reactor que permite reproducir *in vitro* diferentes condiciones biológicas, mecánicas y bioquímicas. En este caso colocaron a cultivar una matriz cargada con células y la sometieron a cargas mecánicas de 7 kPa a 0.05 Hz por dos semanas y observaron que la morfología de las células y la síntesis de proteínas cambia bajo la estimulación mecánica.

Por otra parte, Hart et al.⁵⁴ desarrollaron un composite magneto restrictivo consistente en partículas de Terfenol-D encapsuladas en una resina epoxi que cambia de longitud cuando se expone al campo magnético. Cuando estas partículas fueron colocadas en un hueso porcino *ex vitro*, y este se sometió a un campo magnético se promovió el crecimiento de hueso cortical.

Li et al.⁵⁵ Desarrollaron un método para preparar microcápsulas compuestas (orgánica–inorgánica) por medio de la sinergia del auto-ensamblado capa por capa (LBL) y posterior mineralización biomimética. Por el uso de polielectrolitos de poli (estireno sulfonato) y la bio macromolécula protamine (Pro), sobre micropartículas de carbonato de calcio. Las microcápsulas con paredes por capas poseen una estructura hueca.

Conclusiones

Actualmente existe un gran número de materiales y métodos que permiten hacer sustitutos óseos a la medida de los requerimientos específicos para cada necesidad. Son los materiales compuestos orgánico - inorgánicos los que en mayor medida están siendo desarrollados y cada vez más, aparecen métodos que permiten controlar los parámetros de construcción y obtener matrices con mayor grado de reproducibilidad.

Referencias Bibliográficas

- ¹ Brydone AS, Meek D, Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine. **2010**; 224: 1329-1343.
- ² Arias Fernández JI. Nuevos enfoques para mejorar las propiedades mecánicas y biológicas de compuestos cálcicos para su uso como sustitutos óseos. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. 2007; VIII(12): 1695-7504.
- ³ Dorozhkin SV. Medical application of calcium orthophosphate bioceramics. Bio **2011**; 1:1–51.
- ⁴ Dorozhkin SV. Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates. Acta Biomaterialia. **2012**; 8: 963–977
- ⁵ Katti KS. Biomaterials in total joint replacement. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2004: 10pp.
- ⁶ Chin-Fu Ch, Hsin-Hsin Sh, Tsai-Yu L, Ya-Jen Y, Wei-Chuan Ch, I-Ming Ch. Studies on the preparation and characterization of mPEG-polyester biodegradable biogluce for bone defect repair. J Med Biol Eng. **2011**; 31(1): 13-17.
- ⁷ Kawashita M, Nakao M, Minoda M, Kim H-M, Beppu T, Miyamoto T, Kokubo T, Nakamura T. Apatite-forming ability of carboxyl group-containing polymer gels in a simulated body fluid. Biomaterials. 2003; 24(14): 2477-2484.
- ⁸ Abe Y, Kokubo T, Yamamuro T. Apatite Coating on Ceramics, Metals and Polymers Utilizing A Biological Process. Journal of Materials Science-Materials in Medicine. 1990; 1(4): 233-238.
- ⁹ Jun YK, Kim WH, Kweon OK. The fabrication and biochemical evaluation of alumina reinforced calcium phosphate porous implants. Biomaterials. 2003; 24(21): 3731-3739.
- ¹⁰ Marques PA d AP. Reações de superfície de cerâmicos de fosfato de cálcio em plasma simulado. Tese de Doutorado, Aveiro, Portugal: Universidade de Aveiro; 2003.
- ¹¹ Feng QL, Wang H, Cui FZ. Controlled crystal growth of calcium phosphate on titanium surface by NaOH-treatment. Journal of Crystal Growth. 1999; 200(3-4): 550-557.
- ¹² Bastos IN, Platt GM, Soares GA. Thermodynamics study of simplified SBF solutions, Ouro Preto, 2005.
- ¹³ Resende CX. Estudo teórico - experimental de duas soluções para testes de Bioatividade e revestimento de metais. Tese para o Grau de Mestre em Ciências em Engenharia Metalúrgica. Rio de Janeiro Brasil: UFRJ; 2007.
- ¹⁴ Leonor IB, Kim H-M, Balas F, Kawashita M, Reis R.L, Kokubo T, Nakamura T. Surface charge of bioactive polyethylene modified with –SO₃H groups and its apatite inducing capability in simulated body fluid. Key Engineering Materials. 2005; 284-286: 453-456.
- ¹⁵ Yokoyama A, Gelinsky M, Kawasaki T, Kohgo T, König U, Pompe W, Watari F. Biomimetic Porous Scaffolds with High Elasticity Made from Mineralized Collagen—An Animal Study. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater. 2005; 75B: 464–472.
- ¹⁶ Landis WJ, Silverb FH, Freeman JW. Collagen as a scaffold for biomimetic mineralization of vertebrate tissues. J. Mater. Chem. 2006; 16: 1495–1503.

- ¹⁷ Takeuchi A, Ohtsuki Ch, Miyazaki T, Kamitakahara M, Ogata Sh, Yamazaki M, Furutani Y, Kinoshita H, Tanihara M. Heterogeneous nucleation of hydroxyapatite on protein: structural effect of silk sericin. *Journal of the Royal Society Interface*. 2005; 2 (4): 373–378.
- ¹⁸ Liao SS, Cui FZ, Zhang W, Feng QL. Hierarchically biomimetic bone scaffold materials: Nano-HA/collagen/PLA composite. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2004; 69B(2): 158–165.
- ¹⁹ Pashkuleva I, Marques AP, Vaz F, Reis RI. Surface modification of starch based biomaterials can simultaneously enhance cell adhesion and proliferation and induce bioactivity. 18th European Conference on Biomaterials, Stuttgart, Germany. 2003
- ²⁰ Li S. H., Liu Q., de Wijn J. R., Zhou B. L. and de Groot K. (1997) *In vitro* calcium phosphate formation on a natural composite material, bamboo. *Biomaterials* 18 (5): 389-395
- ²¹ Ye Y-M., Huang C-P., Wang Q., Li Q-L., Chen Z-Q. and Bao C-Y. (2008) Biomimetic synthesis of a novel HA/corn cob composite. *Applied Surface Science* 255 (2): 548-551.
- ²² Green D, Howard D, Yang X, Kelly M, Oreffo ROC. Natural Marine Sponge Fiber Skeleton: A Biomimetic Scaffold for Human Osteoprogenitor Cell Attachment, Growth, and Differentiation. *Tissue Engineering*. 2003; 9(6): 1159-1166.
- ²³ Wan YZ, Huang Y, Yuan CD, Raman S, Zhu Y, Jiang HJ, He F, Gao C. Biomimetic synthesis of hydroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. *Materials Science and Engineering*. 2007; C 27(4): 855-864.
- ²⁴ Hutchens SA, Benson RS, Evans BR, O'Neill HM, Rawn CJ. Biomimetic synthesis of calcium-deficient hydroxyapatite in a natural hydrogel. *Biomaterials*. 2006; 27(26): 4661-4670.
- ²⁵ Hernández Escalona M, Brito Godoy LC, Arjona Medina IM. Mineralización biomimética de dos soportes poliméricos de origen natural. V Congreso Internacional de Biomateriales, BIOMAT'10 ISBN: 978-959-304-037-2: 232-236. **2010**.
- ²⁶ Chua KC, An J, Leong KF, Cheah CM, Chang H. Spinning of biomaterial microfibers for tendon tissue engineering. En: Bartolo et al. (eds) *Innovative Developments in Design and Manufacturing*. London: Taylor & Francis Group; **2010**. 51-57.
- ²⁷ Zhang YZ, Su B, Venugopal J, Ramakrishna S, Lim CT. Biomimetic and bioactive nanofibrous scaffolds from electro spun composite nanofibers. *Int J Nanomedicine*. 2007; 2(4): 623–638.
- ²⁸ Bucklen AB, Wettergreen BM, Liebschner CM. Scaffold micro-architecture optimization based on bio-mimetic principles. En: Bartolo et al. (eds) *Innovative Developments in Design and Manufacturing*. London: Taylor & Francis Group; **2010**. 15-25.
- ²⁹ Dean D, Wallace J, Kim K, Mikos AG, Fisher JP. Stereolithographic rendering of low molecular weight polymer scaffolds for bone tissue engineering. En: Bartolo et al. (eds) *Innovative Developments in Design and Manufacturing*. London: Taylor & Francis Group; **2010**. 37-43.
- ³⁰ Tan JY, Chua CK, Leong KF. Indirect fabrication of tissue engineering scaffolds using rapid prototyping and foaming process. En: Bartolo et al. (eds) *Innovative Developments in Design and Manufacturing*. London: Taylor & Francis Group; **2010**. 51-57.
- ³¹ Salgado CL, Sanchez EMS, Zavgaglia CAC, Almeida ABA, Granja PL. Injectable biodegradable polycaprolactone-sebacic acid gels for bone tissue engineering. *Tissue Engineering*. **2012**; 18:137-46.
- ³² Maazouz Y. Cementos de fosfato tricálcico sustituidos con silicio: estudio de la bioactividad y de la liberación de iones. Master Thesis. Barcelona. España: Universitat Politècnica de Catalunya. Departament de Ciència dels Materials i Enginyeria Metallúrgica; **2010**
- ³³ Amit Bandyopadhyay, Sheldon Bernard, Weichang Xue, Susmita Bose. Calcium Phosphate-Based Resorbable Ceramics: Influence of MgO, ZnO, and SiO₂ Dopants. *Journal of the American Ceramic Society* Volume 89, Issue 9: 2675–2688, 2006
- ³⁴ Xiang Wei a, Ozan Ugurlu a, Agarwal Ankit b, Havva Yagci Acar c, Mufit Akinc. Dissolution behavior of Si,Zn-codoped tricalcium phosphates. *Materials Science and Engineering C*. **2009**; 29: 126–135
- ³⁵ Bandyopadhyay A, Bose S. Resorbable ceramics with controlled strength loss rates. Patent Application Number: 20090276056. **2009**.

- ³⁶ Ahmed I, Jones IA, Parsons AJ, Bernard J, Farmer J, Scotchford CA, Walker GS, Rudd CD. Composites for bone repair: phosphate glass fibre reinforced PLA with varying fibre architecture. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. **2011**; 22 (8): 1825-1834.
- ³⁷ Mohammadi MS, Ahmed I, Muja N, Almeida S, Rudd CD, Bureau MN, Nazhat SN. Effect of Si and Fe doping on calcium phosphate glass fibre reinforced polycaprolactone bone analogous composites. *Acta Biomater*. **2012**; 8(4):1616-26.
- ³⁸ Song W, Ren W, Wan C, Esquivel AO, Shi T, Blasier R, Markel DC. A novel strontium-doped calcium polyphosphate/erythromycin/poly(vinyl alcohol) composite for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res Part A*. **2011**; 98A:359–371.
- ³⁹ Munarin F, Guerreiro SG, Grellier MA, Tanzi MC, Barbosa MA, Petrini P, Granja PL. Pectin-based injectable biomaterials for bone tissue engineering. *Biomacromolecules*. **2011**; 12(3): 568-77.
- ⁴⁰ Engel E, Asin L, Delgado JA, Aparicio C, Planell JÁ, Ginebra MP. Cell behaviour of Calcium Phosphate Bone Cement modified with a Protein-based Foaming Agent. *Key Engineering Materials*. 2005; 284-286: 117-120.
- ⁴¹ Haberstroh K, Ritter K, Kuschnierz J, Bormann KH, Kaps C, Carvalho C, Mülhaupt R, Sittlinger M, Gellrich NC. Bone repair by cell-seeded 3D-bioplotting composite scaffolds made of collagen treated tricalciumphosphate or tricalciumphosphate-chitosan-collagen hydrogel or PLGA in ovine critical-sized calvarial defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. **2010**; 93(2): 520-530.
- ⁴² Venkatesan J, Kim S-K. Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering—An Overview *Marine Drugs*. **2010**; 8(8): 2252-2266
- ⁴³ Lee CS, Moyer HR, Gittens RA, Williams JK, Boskey AL, Boyan BD, Schwartz Z. Regulating in vivo calcification of alginate microbeads. *Biomaterials*. **2010**; 31(18): 4926-34.
- ⁴⁴ M.H. Prado da Silva, C.N. Elias, J.H.C. Lima, G.A. Soares, I.R. Gibson, S.M. Best. *Implantes odontológicos revestidos eletroliticamente com hidroxiapatita*. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*, v. 17, n. 2, p. 79-83, mai/ago 2001
- ⁴⁵ Cristina Costa de Almeida; Lídia Ágata Sena; Marcelo Pinto; Carlos Alberto Muller; José Henrique Cavalcanti Lima; Glória de Almeida Soares *In Vivo* Characterization of Titanium Implants Coated with Synthetic Hydroxyapatite by Electrophoresis. *Braz. Dent. J.* v.16 n.1 Ribeirão Preto jan./abr. 2005
- ⁴⁶ Costa S. A., Oliveira J. M., Leonor I. B. and Reis R. L. (2005) Carboxymethyl chitosan / Calcium Phosphate Hybrid Materials Prepared by an Innovative Auto-Catalytic co-Precipitation Method *Key Engineering Materials*, Vols. 284-286: 701-704.
- [⁴⁷] Brighton CT, Wang W, Seldes R, Zhang G, Pollack SR. Signal Transduction in Electrically Stimulated Bone Cells. *J Bone Joint Surg Am*. 2001;83A (10):1514-1523.
- ⁴⁸ van Iris U. Investigating cellular electroporation using planar membrane models and miniaturized devices. Thesis. Twente Holanda: University of Twente; **2010**
- ⁴⁹ J. Wang, J. de Boer and K. de Groot. Preparation and Characterization of Electrodeposited Calcium Phosphate/Chitosan Coating on Ti6Al4V Plates *Journal of Dental Research* 83(4):296-301, 2004
- ⁵⁰ M. Cheong, I. Zhitomirsky. Electrodeposition of alginate acid and composite films. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 328 (2008) 73–78
- ⁵¹ D. Zhitomirskya, J.A. Roetherb, A.R. Boccaccinib, I. Zhitomirskyc, Electrophoretic deposition of bioactive glass/polymer composite coatings with and without HA nanoparticle inclusions for biomedical applications. *Journal of materials processing technology* 209 (2009) 1853–1860
- ⁵² DEVID MANIGLIO, WALTER BONANI, GABRIO BORTOLUZZI, EVA SERVOLI, ANTONELLA MOTTA AND CLAUDIO MIGLIARESI *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* **2010** 25: 441-454
- ⁵³ Matziolis G, Tuischer J, Kasper G, Thompson M, Bartmeyer B, Krockner D, Perka C, Duda G. Simulation of cell differentiation in fracture healing: mechanically loaded composite scaffolds in a novel bioreactor system. *Tissue Eng*. **2006**; 12(1): 201-208.
- ⁵⁴ Hart S, Bucio R, Dapino M. Magnetostrictive Actuation of a Bone Loading Composite for Accelerated Tissue Formation. *Smart Materials Research Volume* **2012**, Article: ID 258638, 7 pp.

⁵⁵ Li J, Jiang Z, Wu H, Zhang L, Long L, Jiang Y. Constructing inorganic shell onto LBL microcapsule through biomimetic mineralization: A novel and facile method for fabrication of microreactors. *Soft Matter*. **2010**; 6: 542-550.