REAL ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA

Discurso de ingreso como

Académico de Honor

BIOMATERIALES PARA LA ADMINISTRACIÓN DE BIOMOLÉCULAS Y CÉLULAS EN APLICACIONES DE INGENIERÍA DE TEJIDOS

Prof. Dr. Antonios G. Mikos

Laudatio a cargo de la Académica de Número

Ilma. Sra. Dra. Carmen Álvarez Lorenzo

Santiago de Compostela
24 de abril de 2024

© Antonios G. Mikos, Consellería de Sanidade y Real Academia de Farmacia de Galicia

Imprime y edita: NINO-Centro de Impresión Digital.
Rosalía de Castro, 58.
Santiago de Compostela.

Maquetación: Miguel A. Suárez.

ISBN: 978-84-127789-9-1.

Depósito legal: C 612-2024.

Índice

Índice **3**

1. Laudatio **5**

2. Discurso de ingreso **13**

2.1. El paradigma de la ingeniería de tejidos 14

2.2. Andamios biomiméticos 14

2.3 Técnicas de biofabricación de andamios 16

2.3.1. Impresión 3D de andamios con gradientes 17

2.3.2. Efectos de la impresión 3D sobre la bioactividad 19

2.3.3. Impresión 3D de tintas coloidales 20

2.4. Andamios de tejido descelularizado 23

2.5. Tejidos generados en biorreactores *in vivo* 24

2.6 Biotintas cargadas de células 26

2.7. Aditivos para bioimpresión 3D 27

2.8. Bioimpresión 3D de hidrogeles con gradientes 28

2.9. Agentes reticulantes para tejidos específicos 30

2.10. Hidrogeles para tejidos específicos 30

2.11. Impresión 3D de tintas de doble gelificación 33

2.12 Inteligencia Artificial (y aprendizaje automático) aplicada a la ingeniería de tejidos 34

2.13. Modelado de tumores 35

2.13.1. Modelos tumorales con propiedades mecánicas ajustables 36
2.13.2. Modelos tumorales osteomiméticos 38
2.14 Modelado de respuesta a cuerpos extraños 38
2.15. Andamios magnetoeléctricos 40
2.16 Agradecimientos 41
3. Curriculum Vitae abreviado 43

1. Laudatio

POR LA ACADÉMICA DE NÚMERO Ilma. Dra. Dña. CARMEN ALVAREZ LORENZO PARA LA TOMA DE POSESIÓN DEL Prof. Dr. D. ANTONIOS G. MIKOS COMO ACADÉMICO DE HONOR DE LA REAL ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA

Hoy es un día importante para la Real Academia de Farmacia de Galicia. Se incorpora a nuestra institución un docente y un investigador extraordinario en el ámbito de los biomateriales aplicados a la salud, en su vertiente más amplia e internacional. Quiero empezar congratulándome con todos los miembros de la Real Academia de Farmacia de Galicia por la elección del Prof. Antonios G. Mikos como Académico de Honor, y agradeciendo a la Junta de Gobierno el encargo de hacer su Laudatio. Me siento muy honrada por la oportunidad que se me ofrece de presentar los méritos científicos y académicos que acreditan al Prof. Mikos como merecedor de la mayor distinción que otorga nuestra academia.

De acuerdo con los Estatutos de la Real Academia de Farmacia de Galicia, la elección de académicos de honor se reserva a aquellas personas que por sus trabajos en ciencias farmacéuticas o afines alcancen un relevante prestigio, o que destaquen por sus contribuciones a la farmacia desde cualquier otro campo. El Prof. Mikos cumple con creces estos requisitos por su extenso

curriculum vitae, por la relevancia de sus aportaciones y por el reconocimiento internacional con el que cuenta, pero también por su vinculación con Galicia a través de las colaboraciones que mantiene con investigadores de la Universidad de Santiago de Compostela.

Hacer un resumen ajustado de la amplísima labor científica y profesional del Prof. Mikos no resulta una tarea fácil. Intentaré resaltar, con la brevedad que imponen las limitaciones de tiempo, lo que supone una vida entregada al trabajo científico, que es un ejemplo para muchos de nosotros y, especialmente, para las generaciones más jóvenes.

El Prof. Mikos nació en 1960 en Tesalónica, Grecia; una ciudad con una espléndida historia de cruce y encuentro entre culturas muy variadas, y en la que se asienta la *Aristotelian University*, o Universidad Aristotélica, con el lema "sacrificio a las gracias y a las musas". En esta universidad, que es la de mayor tamaño de Grecia y debe su nombre al padre de la filosofía occidental -nacido a pocos kilómetros de Tesalónica-, cursó sus estudios universitarios en ingeniería (Dipl. Eng., 1983).

A continuación, se trasladó a Estados Unidos, para hacer sus estudios de Master (1985) y el Doctorado en Ingeniería Química (1988) en la *Purdue University*, una universidad pública de primer nivel distinguida con 13 Premios Nobel, y a cuyos miembros se les conoce con el sobrenombre de "caldereros" por su desempeño en los primeros años de existencia de la Universidad construyendo máquinas de vapor para locomotoras. La dirección de su Doctorado corrió a cargo del Prof. Nicholas Peppas, uno de los investigadores con mayor número de publicaciones y citas del mundo en el ámbito de los biomateriales y los sistemas de administración de fármacos, y que también mantiene una notable

vinculación con Galicia. El Prof. Peppas, que es Doctor Honoris Causa por la Universidad de Santiago de Compostela desde 2019, colabora con grupos gallegos y recibe y apoya a sus investigadores jóvenes desde hace un buen número de años.

Una vez finalizados los estudios de doctorado, el Prof. Mikos llevó a cabo estancias postdoctorales en el *Massachusetts Institute of Technology* (MIT) y la *Harvard Medical School*, donde tuvo ocasión de colaborar con científicos tan notables como los Profesores Robert Langer y Joseph Vacanti, pioneros en el desarrollo de medicamento avanzados y en regeneración de tejidos. "Mente y Manos" y "Verdad" son, respectivamente, los lemas de estas dos prestigiosas universidades.

Antonios G. Mikos es Profesor Louis Calder de Bioingeniería e Ingeniería Química y Biomolecular de la *Rice University* (en Houston) desde 2008, después de haber ocupado desde 1992 diferentes puestos en esa misma Universidad, entre ellos el de Profesor John W. Cox. Además, es Director del Laboratorio de Biomateriales, del Centro de Excelencia en Ingeniería de Tejidos y del Laboratorio J.W. Cox de Ingeniería Biomédica.

El Prof. Mikos es miembro de las Academias Nacionales de Ingeniería y de Medicina de Estados Unidos, de la Academia Internacional de Ingeniería Médica y Biológica, de la Academia China de Ingeniería, de la Academia Europaea, de la Academia de Medicina, Ingeniería y Ciencias de Texas, y de la Academia de Atenas. Es miembro fundador de la Sociedad Internacional de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa, miembro de la Asociación Estadounidense para el Avance de la Ciencia, del Instituto Americano de Ingeniería Médica y Biológica, del Instituto Americano de Ingenieros Químicos, de la Sociedad de Ingeniería

Biomédica, de la Sociedad de Liberación Controlada, de la Unión Internacional de Sociedades de Ciencia e Ingeniería de Biomateriales, y de la Academia Nacional de Inventores.

Se trata de un investigador con un enorme reconocimiento en todo el mundo como pionero en la aplicación de los fundamentos de la ingeniería y las ciencias biológicas en el desarrollo de biomateriales para una amplia variedad de usos biomédicos, que van desde la administración controlada de fármacos y la terapia génica hasta la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa. Su investigación -financiada en convocatorias competitivas de los Institutos Nacionales de Salud, la Fundación Nacional de Ciencias, el Departamento de Defensa, fundaciones privadas e industrias- ha dado lugar a nuevos biomateriales ortopédicos, dentales, cardiovasculares, neurológicos y oftalmológicos.

El Prof. Mikos fue pionero en la preparación de vectores génicos no virales que combinan polímeros sintéticos con segmentos de origen natural, lo que abrió nuevas vías para aumentar la eficacia de la transfección aprovechando vías mediadas por receptores celulares. Contribuyó de una manera muy importante al diseño racional de materiales funcionalizados en la nanoescala útiles en la preparación de andamios 3D para ingeniería de tejidos, a los que dotó de capacidad para regular la cesión de sustancias biológicamente activas y para promover la regeneración de tejidos e interfases tisulares complejas. Además, desarrolló sistemas basados en hidrogeles biodegradables para la liberación controlada en el tiempo y en el espacio de múltiples factores de crecimiento, solos o en combinación con poblaciones de células madre encapsuladas, destinados a promover la reparación de defectos tisulares. Estos sistemas hicieron posible el estudio

mecanicista de los efectos de los factores de crecimiento y la administración de células madre sobre la reparación inducida de una amplia variedad de tejidos, como hueso, cartílago, cristalino y miocardio.

El grupo del Prof. Mikos revolucionó el desarrollo de biorreactores de perfusión de flujo para cultivo celular e hizo contribuciones fundamentales al conocimiento de los efectos del transporte de masa y las fuerzas de cizalla de fluidos sobre la viabilidad y la diferenciación celular en sistemas 3D. Este enfoque, además de constituir una aportación muy valiosa para la regeneración de tejidos *in vivo*, ha permitido desarrollar nuevos modelos de tumores útiles en ensayos preclínicos de alto rendimiento de fármacos para medicina personalizada en el tratamiento del cáncer.

Algunos datos cuantitativos, extraídos de distintas bases de datos y del recientemente publicado ranking científico Research.com, reflejan sus destacados indicadores bibliométricos:

- Autor más de 700 publicaciones, que en conjunto han sido objeto de más de 100.000 citas, con un índice h de 166.

- Inventor de 32 patentes, que han sido licenciadas por empresas biotecnológicas consolidadas y emergentes.

- Reconocido como uno de los mejores científicos del mundo en 2023 y como líder en el ámbito de Ciencia de Materiales en USA.

- Mentor de más de 70 estudiantes de doctorado y de 40 investigadores postdoctorales, 24 de los cuales

permanecen en el mundo académico, ampliando aún más la ya profunda impronta del Prof. Mikos en su ámbito de conocimiento.

- Conferenciante en más de 800 congresos nacionales e internacionales y ponente en más de 220 seminarios invitados en universidades y empresas.

- Editor de 15 libros, incluidos los best sellers del ámbito académico *Principios y prácticas de ingeniería de tejidos* (CRC Press, 2013) y *Principios de medicina regenerativa* (Elsevier Academic Press, 2019), y autor del principal libro de texto universitario sobre biomateriales (*Biomaterials: The Intersection of Biology and Materials Science*, Pearson, 1.ª ed., 2008 y 2.ª ed., 2023).

La investigación en el laboratorio de Mikos en la *Rice University* continúa en estas áreas emergentes en la frontera de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa. Como indica su recuento de citas, sus descubrimientos son tremendamente impactantes y trascienden al ámbito académico. Ha fundado o participado en varias empresas emergentes en el ámbito de la ingeniería de tejidos y en el de los productos de combinación fármaco-producto biológico-producto sanitario, dos campos de elevadísima demanda sanitaria. Entre otras aplicaciones, el Prof. Mikos se ha centrado en aportar soluciones regenerativas para el tratamiento de lesiones que se producen en conflictos bélicos, en su papel como líder del programa de reconstrucción craneofacial del Instituto de Medicina Regenerativa de las Fuerzas Armadas de Estados Unidos desde el año 2008.

El Prof. Mikos realiza una intensa actividad de servicio a la comunidad científica y ha ocupado puestos de liderazgo tan

destacados como los de presidente de la Sociedad de Biomateriales y de la sección americana de la Sociedad Internacional de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa. Es el organizador del curso de educación continua Avances en Ingeniería de Tejidos, que se imparte anualmente desde hace más de 30 años en la *Rice University*, y también de la Conferencia del Egeo sobre Ingeniería de Tejidos que se celebra en Grecia cada tres años desde 2002. Es miembro de los consejos editoriales de revistas tan importantes como Advanced Drug Delivery Reviews, Journal of Biomaterials Science Polymer Edition, Journal of Biomedical Materials Research (Parte A y B), Journal of Controlled Release y Regenerative Biomaterials. Es Editor fundador y Editor en jefe de las revistas Tissue Engineering Part A, Tissue Engineering Part B: Reviews, y Tissue Engineering Part C: Methods. Bajo su liderazgo durante 30 años, estas revistas siguen siendo las principales publicaciones en su campo.

Entre los múltiples y muy prestigiosos premios que ha recibido, me gustaría destacar el *Biomaterials Global Impact Award* que se le va a entregar en el próximo mes de mayo durante la celebración del Congreso Mundial de Biomateriales, en Daegu, Corea del Sur, y que reconoce los logros con más impacto en investigación y desarrollo en el campo de los biomateriales.

La capacidad del Prof. Mikos para aunar los lemas de las universidades en las que se ha formado se refleja en su extraordinario desempeño de "mente y manos" para alimentar la "caldera" del conocimiento humano con una elevadísima e innovadora productividad científica y con aportaciones tecnológicas verdaderamente útiles para la sociedad en general. Estoy segura de que "las gracias y las musas" de la Universidad Aristotélica se sentirán muy satisfechas al comprobar que esos avances científicos inspiran a las nuevas generaciones, y que a partir

de hoy se difunden también desde la Real Academia de Farmacia de Galicia.

Muchas gracias Prof. Mikos por su disponibilidad para desplazarse a Santiago de Compostela y compartir su experiencia y sus conocimientos con nosotros sobre un tema de tanta actualidad como es el de los *Biomateriales para la administración de biomoléculas y células en aplicaciones de ingeniería de tejidos*.

2. Discurso de ingreso

BIOMATERIALES PARA LA ADMINISTRACIÓN DE BIOMOLÉCULAS Y CÉLULAS EN APLICACIONES DE INGENIERÍA DE TEJIDOS

Ilustrísimo Señor Presidente de la
Real Academia de Farmacia de Galicia,
Ilustrísimas Señoras y Señores Académicos,
Autoridades,
Señoras y Señores:

Distinguidos miembros de la Real Academia de Farmacia de Galicia, es para mí un honor y un privilegio dirigirme a ustedes en este día tan especial. En primer lugar, deseo expresar mi sincero agradecimiento a todos los académicos y, en particular, al Presidente Dr. Angel Concheiro por la oportunidad que se me ofrece de entrar a formar parte de esta prestigiosa institución como Académico de Honor y permitirme compartir con ustedes parte del trabajo realizado en mi laboratorio en los últimos años. Gracias Profesora Carmen Alvarez-Lorenzo por su amable *laudatio*. Me siento profundamente agradecido.

Las palabras no son suficientes para expresar el gran honor personal que supone el ser reconocido por los esfuerzos científicos de mi laboratorio. Estos logros no habrían sido posibles sin el apoyo incondicional de mis mentores, mis colaboradores y mis estudiantes, pasados y presentes. Su

dedicación y su compromiso han sido fundamentales en el desarrollo de nuestro trabajo científico, en particular en el ámbito de los *Biomateriales para la administración de biomoléculas y células en aplicaciones de ingeniería de tejidos*. Este campo representa un área emocionante en la intersección de la ciencia de los materiales y la medicina, donde nuestro trabajo ha encontrado un terreno fértil para el avance y la innovación.

2.1. El paradigma de la ingeniería de tejidos

Los biomateriales continúan desempeñando un papel de vital importancia en el paradigma de la ingeniería de tejidos. Actúan como andamios y como sistemas de administración de células, de biomoléculas y de sustancias de señalización, con el objetivo de promover la formación y la regeneración de tejidos. A lo largo de los años, se han investigado diversas composiciones de biomateriales, que incluyen polímeros sintéticos y naturales, cerámicas y metales, entre otros. A los biomateriales se les puede dotar de distintas propiedades y consistencias, para desarrollar desde sistemas inyectables hasta dispositivos rígidos implantables que cumplan con las necesidades impuestas por situaciones clínicas específicas. Los biomateriales inyectables posibilitan la administración de combinaciones de células y biomoléculas mediante una intervención quirúrgica mínimamente invasiva, mientras que los biomateriales estructurados rígidos proporcionan las señales arquitectónicas necesarias para la regeneración de diversos tejidos.

2.2. Andamios biomiméticos

La biomimética es una fuente de inspiración fundamental en el desarrollo de andamios para la ingeniería de tejidos. Por ejemplo, en colaboración con la Dra. Xiumei Wang y sus colegas de la

Universidad de Tsinghua, publicamos en 2023 en la revista *Small Structures* [1] un estudio sobre la fabricación de hueso laminar artificial con dimensiones clínicamente relevantes, empleando una combinación de técnicas que permite un control muy preciso de la composición y la estructura a varios niveles. Estas técnicas incluyen el autoensamblaje molecular, el electrohilado y la fusión dirigida por presión. El hueso laminar artificial desarrollado consiste en fibrillas de colágeno mineralizado ensambladas de manera jerárquica, que imitan la organización estructural multinivel de las laminillas naturales. Esta estructura bioinspirada permitió obtener andamios (*scaffolds*) para hueso con propiedades mecánicas mejoradas con respecto a las opciones ya disponibles, y mucho más ligeros.

Otro estudio[2], publicado en *Science Advances* en 2022, en colaboración con los Drs. Xingdong Zhang y Kai Zhang y sus colegas de la Universidad de Sichuan, se centró en el desarrollo de andamios biomiméticos de polietercetonacetona con estructura porosa jerarquizada (Figura 1). Para ello se aplicó una estrategia innovadora que combina un procedimiento de sulfonación con la deposición de apatita, imitando la composición del hueso natural. Los andamios biomiméticos resultantes mostraron una notable capacidad osteoinductiva, facilitando la formación de hueso y la regeneración ósea tanto ectópica como ortotópica en modelos animales. Esta capacidad para regenerar hueso se debe a la activación de las vías de señalización del monofosfato de adenosina cíclico y la proteína quinasa A.

---

1 *Zhao, Y., Zheng, J., Xiong, Y., Wang, H., Yang, S., Sun, X., Zhao, L., Mikos, A.G. and Wang, X. (2023) Hierarchically Engineered Artificial Lamellar Bone with High Strength and Toughness. Small Struct., 4: 2200256.*

2 *Yuan B, Zhang Y, Zhao R, Lin H, Yang X, Zhu X, Zhang K, Mikos AG, Zhang X. (2022) A unique biomimetic modification endows polyetherketoneketone scaffold with osteoinductivity by activating cAMP/PKA signaling pathway. Sci Adv., 8(40):eabq711.*

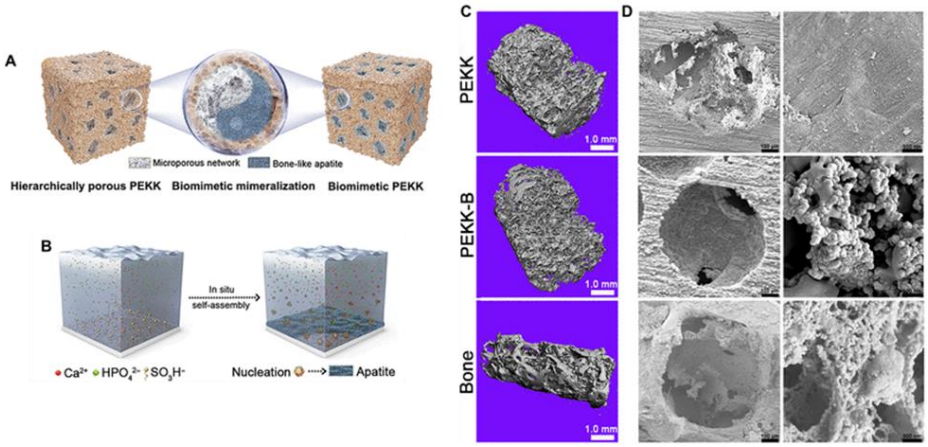

Figura 1: (A) Esquema de los andamios biomiméticos; (B) autoensamblaje in situ de nanopartículas de apatita similares a huesos en la red microporosa del andamio biomimético; (C) reconstrucción por tomografía microcomputada (μ-CT) y (D) observación por microscopía electrónica de barrido (SEM) de los andamios biomiméticos y del hueso trabecular natural. Adaptado de Yuan B, Zhang Y, Zhao R, Lin H, Yang X, Zhu X, Zhang K, Mikos AG, Zhang X. A unique biomimetic modification endows polyetherketoneketone scaffold with osteoinductivity by activating cAMP/PKA signaling pathway. Sci Adv. 2022; 8(40):eabq711, con licencia Creative Commons 4.0 (CC BY-NC).

Estos estudios son un buen ejemplo del gran potencial de las estrategias biomiméticas en el desarrollo de nuevos biomateriales para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

2.3 Técnicas de biofabricación de andamios

En los últimos años, se ha producido un avance muy significativo en las técnicas de impresión 3D y en las técnicas asistidas por campo eléctrico para la fabricación de andamios tridimensionales con arquitecturas y geometrías diseñadas a medida[3]. Estas técnicas, que abarcan desde la extrusión hasta el electrohilado y la electro-

[3] *Koons, G.L., Diba, M., Mikos, A.G. (2020). Materials design for bone-tissue engineering. Nat. Rev. Mater. 5:584-603.*

escritura por fusión, han permitido crear estructuras tanto homogéneas como heterogéneas con diversas morfologías. Esto las dota de capacidad para ceder moléculas bioactivas de manera controlada en el espacio y en el tiempo, según lo requieran las aplicaciones de ingeniería de tejidos. Es esencial resaltar que estas técnicas también ofrecen la posibilidad de generar gradientes tanto composicionales como estructurales, que resultan críticos para estimular la regeneración en interfases de distintos tejidos. Este avance representa un hito importante ya que brinda nuevas herramientas para la creación de andamios con propiedades específicas y funcionalidades adaptadas a necesidades biomédicas y clínicas complejas.

2.3.1. Impresión 3D de andamios con gradientes

En una serie de estudios supervisados por el Dr. Luis Díaz-Gómez, que fue investigador postdoctoral en mi laboratorio hace algunos años y actualmente es profesor en la Universidad de Santiago de Compostela, se empleó la técnica de impresión 3D por extrusión para fabricar andamios a base de poli(ε-caprolactona) e hidroxiapatita con gradientes de contenido en material cerámico y de porosidad (Figura 2)[4]. Se consiguió obtener andamios que cubrían un amplio abanico de porosidades y tamaños de poro, y con un control muy preciso de la cantidad de partículas cerámicas incorporadas. La creación de gradientes tuvo un impacto directo no solo en las propiedades mecánicas de los andamios, sino también en su velocidad de degradación. Además de andamios con gradientes verticales obtenidos mediante la impresión 3D capa por capa, se investigó la fabricación de andamios con gradientes horizontales

[4] *Diaz-Gomez, L., Smith, B. T., Kontoyiannis, P. D., Bittner, S. M., Melchiorri, A. J., Mikos, A. G. (2019). Multimaterial Segmented Fiber Printing for Gradient Tissue Engineering. Tissue Eng. Part C Methods, 25(1): 12–24.*

mediante impresión de fibra segmentada[5]. Este enfoque tenía como objetivo generar andamios anisotrópicos con el nivel de complejidad requerido para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

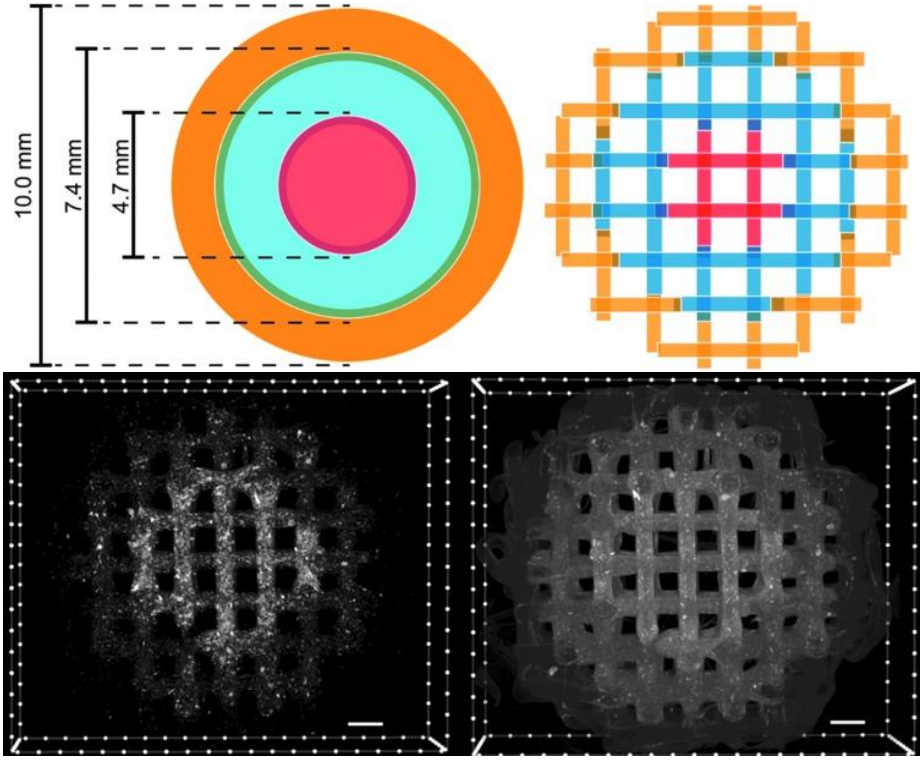

Figura 2. Modelo 3D de scaffolds creados con un gradiente de composición radial; los colores representan distintas mezclas de PCL y material cerámico: color naranja, PCL-TCP30; color azul PCL-HA15TCP15; color rojo, PCL-HA30. PCL: poli-ε-caprolactona; HA: hidroxiapatita; TCP: β-tricalcio fosfato. Debajo, imágenes de micro-CT que confirman el incremento en contenido en HA (color más claro) desde los bordes de los scaffolds hacia el centro. Reproducido de Diaz-Gomez L, Smith BT, Kontoyiannis PD, Bittner SM, Melchiorri AJ, Mikos AG. Multimaterial Segmented Fiber Printing for Gradient Tissue Engineering. Tissue Eng. Part C Methods. 2019; 25(1):12-24, con permiso de Mary Ann Liebert, Inc.

---

5 *Bittner, S. M., Smith, B. T., Diaz-Gomez, L., Hudgins, C. D., Melchiorri, A. J., Scott, D. W., Fisher, J. P., Mikos, A. G. (2019). Fabrication and mechanical characterization of 3D printed vertical uniform and gradient scaffolds for bone and osteochondral tissue engineering. Acta Biomater. 90:37–48.*

2.3.2. Efectos de la impresión 3D sobre la bioactividad

Uno de los principales desafíos asociados a las técnicas de impresión 3D, especialmente a la impresión 3D por fusión, es la estabilidad de las biomoléculas a las altas temperaturas que se utilizan en el procesado. En un estudio reciente publicado en *Bioprinting*, observamos que era posible imprimir péptidos específicos del cartílago y péptidos específicos del hueso si se conjugaban con poli(ε-caprolactona) terminada en alquino utilizando química clic[6]. La preparación de andamios osteocondrales por impresión 3D a 95°C no comprometió su bioactividad. Este resultado es importante para el desarrollo de andamios impresos en 3D que incorporan péptidos señalizadores y requieren el uso de altas temperaturas para diferentes aplicaciones en ingeniería de tejidos.

En cambio, las proteínas parecen comportarse de distinta manera que los péptidos. Así, en un trabajo publicado en *Annals of Biomedical Engineering*,[7] se observó que la impresión 3D a 90°C de un polímero biodegradable impregnado con micropartículas poliméricas cargadas con un factor osteogénico potente, la proteína morfogenética ósea-2 (BMP-2), reducía de manera muy significativa la bioactividad de las biomoléculas, en comparación con la impresión a 37°C o incluso a 60°C. Claramente, las proteínas con una estructura terciaria responsable de su bioactividad son más susceptibles a la elevación de la temperaturas en comparación con

---

[6] *Guo, J. L., Diaz-Gomez, L., Xie, V. Y., Bittner, S. M., Jiang, E. Y., Wang, B., Mikos, A. G. (2021). Three-dimensional printing of click functionalized, peptide patterned scaffolds for osteochondral tissue engineering. Bioprinting, 22:e00136.*

[7] *Koons, G. L., Kontoyiannis, P. D., Diba, M., Chim, L. K., Scott, D. W., Mikos, A. G. (2021) Effect of 3D Printing Temperature on Bioactivity of Bone Morphogenetic Protein-2 Released from Polymeric Constructs. Ann. Biomed. Eng. 49(9):2114–2125.*

los péptidos, que carecen de estructura terciaria, y conseguir una adecuada biodisponibilidad local de proteínas bioactivas incorporadas en andamios impresos en 3D a altas temperaturas sigue siendo un desafío importante.

2.3.3. Impresión 3D de tintas coloidales

Preservar la bioactividad de las biomoléculas cargadas en los andamios impresos en 3D ha sido el principal objetivo de los recientes esfuerzos llevados a cabo en nuestro laboratorio para desarrollar tintas que puedan ser procesadas a temperatura fisiológica. Este enfoque busca conservar la actividad biológica de cualquier biomolécula cargada y garantizar la viabilidad de las células encapsuladas. Un ejemplo de estos esfuerzos se recoge en un trabajo publicado en *Biomaterials* en 2021, en el que se describe el desarrollo de tintas coloidales a partir de polímeros naturales, específicamente de gelatina metacrilada[8]. Las nanopartículas de gelatina con densidades de reticulación intraparticular variables también se entrecruzaron unas con otras en su superficie formando estructuras con cinéticas de degradación y de hinchamiento controladas. En este estudio, se demostró la posibilidad de controlar la densidad de entrecruzamiento interparticular mediante radiación UV, lo que permitió ajustar las propiedades de hinchamiento de las fibras y de los andamios así como su degradación, según lo requerido para aplicaciones específicas.

Es importante destacar que, si bien el hinchamiento de un andamio puede ser ventajoso en ciertos contextos, como en la ingeniería de tejidos osteocondrales, donde puede promover la

---

[8] *Diba, M., Koons, G. L., Bedell, M. L., Mikos, A. G. (2021) 3D printed colloidal biomaterials based on photo-reactive gelatin nanoparticles. Biomaterials, 274:120871.*

integración del andamio con el tejido circundante, para otras aplicaciones puede ser perjudicial. Por ejemplo, un hinchamiento excesivo podría resultar en que el andamio se desprenda del defecto. Este estudio ilustró de manera convincente cómo es posible controlar la densidad de entrecruzamiento intraparticular y, por ende, la cinética de cesión de cualquier biomolécula cargada, de manera independiente de la densidad de entrecruzamiento interparticular, y por consiguiente, el hinchamiento y la degradación de los andamios.

Las matrices extracelulares están siendo cada vez más utilizadas como andamios en ingeniería de tejidos debido a la abundancia de señales bioquímicas que contienen, las cuales facilitan la formación y la regeneración del tejido. Un ejemplo notable es la matriz ósea desmineralizada (DBM por sus siglas en inglés), que ha ganado reconocimiento clínico debido a su capacidad osteoconductora y osteoinductora en el tratamiento de defectos óseos. Actualmente, se utiliza en más del 50% de los procedimientos de aloinjerto óseo en los Estados Unidos. Sin embargo, existen desafíos en la aplicación de DBM debido a su falta de rigidez y rápida degradación. En un estudio publicado en *Regenerative Biomaterials* en 2023,[9] aplicamos nuestra experiencia en la fabricación de nanopartículas y en impresión 3D para diseñar y sintetizar nanopartículas de DBM fotorreticulable para su uso en tintas coloidales compuestas junto con nanopartículas de gelatina. Estas tintas combinan las propiedades regenerativas intrínsecas del hueso con las de las tintas coloidales fotorreactivas e imprimibles en 3D para crear un material con patrones de degradación mejorados, que tenga efectos beneficiosos para la reparación ósea. Los resultados obtenidos mostraron que el contenido de DBM no afectó a las

[9] *Hogan, K. J., Öztatlı, H., Perez, M. R., Si, S., Umurhan, R., Jui, E., Wang, Z., Jiang, E. Y., Han, S. R., Diba, M., Jane Grande-Allen, K., Garipcan, B., Mikos, A. G. (2023) Development of photoreactive demineralized bone matrix 3D printing colloidal inks for bone tissue engineering. Regen. Biomater. 10:rbad090.*

propiedades reológicas del material. En cambio, redujo significativamente la tasa de degradación y la pérdida de masa del material, y aportó potencial osteogénico. Este hallazgo es de relevancia para el avance de los implantes de biomateriales de DBM, ya que brinda un soporte continuo para la infiltración y la regeneración celular natural, facilitando así el proceso de reparación.

De manera análoga, la matriz extracelular del cartílago se ha convertido en un material cada vez más atractivo para preparar andamios útiles en ingeniería de tejidos cartilaginosos ya que conserva señales bioquímicas propias de su entorno natural, como son el colágeno y los glucosaminoglicanos. La ventaja de utilizar estrategias de impresión 3D para la regeneración del cartílago radica en que permite ajustar con precisión arquitecturas espaciales. Sin embargo, la matriz extracelular del cartílago descelularizado (cdECM, por sus siglas en inglés) ha demostrado ser un material desafiante como componente de biotintas debido a sus pobres propiedades reológicas. Recientemente, se han adaptado las tintas a base de nanopartículas de gelatina para desarrollar una nueva biotinta compuesta, que incluye un hidrogel a base de cdECM con nanopartículas de gelatina. En un estudio publicado en *Bioprinting* en 2023, se evaluó la capacidad de impresión de la biotinta, y el perfil de degradación y retención de componentes bioquímicos, en función de la proporción de nanopartículas de gelatina incorporadas[10]. Los resultados mostraron que un mayor contenido en nanopartículas de gelatina permite mejorar las propiedades reológicas y mecánicas de la tinta. Al igual que en trabajos anteriores, se demostró que un incremento de la densidad de fotorreticulación da lugar a una disminución en la degradación y el

[10] *Hogan, K. J., Perez, M. R., Öztath, H., Si, S., Wang, Z., Jiang, E. Y., Diba, M., Garipcan, B., Mikos, A. G. (2023). Development of 3D-printing composite inks based on photoreactive cartilage extracellular matrix and gelatin nanoparticles. Bioprinting., 36:e00317.*

hinchamiento, lo que conduce a una mayor retención de componentes bioquímicos como los glucosaminoglicanos.

En conclusión, la combinación de sistemas coloidales con otras nanopartículas o hidrogeles ha demostrado ser un enfoque efectivo para desarrollar materiales compuestos imprimibles que mejoren la regeneración de tejidos.

2.4. Andamios de tejido descelularizado

En el año 2021, se publicó en *Science Advances* un método para fabricar andamios electrohilados a partir de músculo esquelético descelularizado (dECM), con alineación de fibras y densidad de entrecruzamiento ajustables, con el objetivo de controlar el crecimiento de mioblastos y la formación de miotubos[11]. Para ello, se reguló la alineación de las fibras variando la velocidad del colector rotativo del sistema de electrohilado, y la densidad de entrecruzamiento variando el tiempo de exposición a vapor de glutaraldehído. Los resultados obtenidos demostraron que la alineación de las fibras resulta esencial para guiar la alineación de mioblastos y miotubos. Además, se identificaron las propiedades físicas y bioquímicas necesarias para que se formen miotubos. Por ejemplo, un entrecruzamiento intermedio promovió la adhesión celular y la formación de miotubos, mientras que un entrecruzamiento elevado dificultó la adhesión celular al restringir el acceso a las aminas libres necesarias para mantener las señales bioquímicas de la dECM. Es importante destacar que la liberación oportuna de componentes de la dECM estimuló la angiogénesis y la regeneración del músculo esquelético *in vivo*. Este estudio

---

[11] *Smoak, M. M., Hogan, K. J., Grande-Allen, K. J., Mikos, A. G. (2021). Bioinspired electrospun dECM scaffolds guide cell growth and control the formation of myotubes. Sci. Adv., 7(20):eabg4123.*

demuestra el enorme potencial de la dECM con propiedades fisicoquímicas ajustables para regenerar músculo esquelético.

2.5. Tejidos generados en biorreactores *in vivo*

Durante más de una década, nuestro laboratorio ha sido parte integral del Instituto de Medicina Regenerativa de las Fuerzas Armadas, que tiene como misión impulsar soluciones regenerativas para el tratamiento de lesiones derivadas de operaciones militares. Un desafío clave que hemos enfrentado en la regeneración de tejidos craneofaciales es que la mayoría de las lesiones provocadas por artefactos explosivos improvisados (también conocidos como bombas camineras) son defectos de tejidos compuestos, en los que los tejidos circundantes están severamente dañados. En colaboración con el Dr. Mark Wong y sus colegas clínicos de la Facultad de Odontología de la Universidad Texas en Houston, nos hemos centrado en la búsqueda de una solución regenerativa progresiva para el tratamiento de defectos mandibulares basada en la implantación de un espaciador y un biorreactor *in vivo*.

Mediante el uso de tecnologías avanzadas de polímeros y aplicando técnicas de liberación controlada de fármacos, se prepararon espaciadores que mantienen la lesión abierta, previenen la formación de cicatrices y permiten que el tejido blando sano crezca sobre el material del espaciador. Además, los espaciadores permiten la cesión controlada de antibióticos en la herida, para tratar infecciones locales que puedan obstaculizar la curación normal del tejido.

En paralelo, se han diseñado biorreactores con geometrías y volúmenes personalizados para ser implantados *in vivo* que aprovechan la capacidad de curación natural del organismo para

fomentar el crecimiento de tejido óseo[12]. Para ello, se combinó la estrategia de los espaciadores con la tecnología de biorreactores *in vivo* y se evaluó su utilidad en el tratamiento de defectos mandibulares en un modelo ovino. Los biorreactores *in vivo* son cámaras que se insertan en contacto con un hueso en áreas del cuerpo con alta capacidad regenerativa, como la caja torácica. La forma y el tamaño de estos biorreactores se adapta para que coincidan con el defecto craneofacial del paciente. Al insertar un andamio capaz de promover la regeneración ósea en los biorreactores, las células madre son reclutadas localmente y llenan el interior del espaciador con nuevo tejido óseo. Una vez que el nuevo tejido ha crecido en el biorreactor, el mantenedor de espacio se puede retirar y el nuevo tejido, con una forma que coincide perfectamente con el defecto original, se puede trasplantar al defecto para la regeneración del defecto mandibular.

Utilizando este enfoque, se investigó la capacidad regenerativa de varios andamios colocados en biorreactores implantados sobre el periostio de una costilla en un modelo ovino (Figura 3). Estos andamios incluían injertos óseos autólogos morselizados corticocancelosos, xenoinjertos e injertos sintéticos de fosfato de calcio bifásico[13]. Se observó que todos los andamios generaron nuevo tejido óseo, gracias a las propiedades osteoinductoras de la matriz extracelular, a la liberación de factores

---

12 *Tatara, A. M., Koons, G. L., Watson, E., Piepergerdes, T. C., Shah, S. R., Smith, B. T., Shum, J., Melville, J. C., Hanna, I. A., Demian, N., Ho, T., Ratcliffe, A., van den Beucken, J. J. J. P., Jansen, J. A., Wong, M. E., Mikos, A. G. (2019). Biomaterials-aided mandibular reconstruction using in vivo bioreactors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 116(14):6954–6963.*

13 *Watson, E., Pearce, H. A., Hogan, K. J., van Dijk, N. W. M., Smoak, M. M., Barrios, S., Smith, B. T., Tatara, A. M., Woernley, T. C., Shum, J., Pearl, C. B., Melville, J. C., Ho, T., Hanna, I. A., Demian, N., van den Beucken, J. J. J. P., Jansen, J. A., Wong, M. E., Mikos, A. G. (2023). Repair of complex ovine segmental mandibulectomy utilizing customized tissue engineered bony flaps. PloS One, 18(2):e0280481.*

de crecimiento retenidos en los injertos autólogos y a la liberación de iones de calcio y fosfato por parte de los injertos sintéticos. Este estudio, junto con investigaciones de otros laboratorios, confirma el notable poder regenerativo de la matriz extracelular. Esta matriz actúa como un vehículo para factores inductores específicos del tejido, que son fundamentales para promover la formación y la regeneración de tejidos.

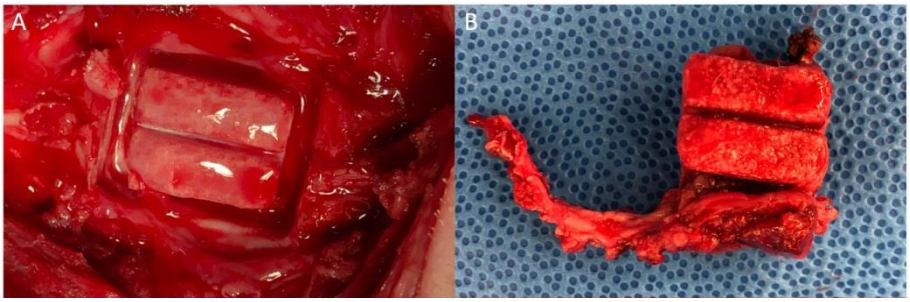

Figura 3: Aspecto del tejido adyacente al defecto después de retirar el biorreactor del tejido óseo recién generado (A) y del tejido después de la extracción junto con la vasculatura (B). Adaptado de Watson, E., Pearce, H. A., Hogan, K. J., van Dijk, N. W. M., Smoak, M. M., Barrios, S., Smith, B. T., Tatara, A. M., Woernley, T. C., Shum, J., Pearl, C. B., Melville, J. C., Ho, T., Hanna, I. A., Demian, N., van den Beucken, J. J. J. P., Jansen, J. A., Wong, M. E., Mikos, A. G. (2023). Repair of complex ovine segmental mandibulectomy utilizing customized tissue engineered bony flaps. PloS One, 18(2):e0280481, con licencia Creative Commons 4.0 (CC BY 4.0 DEED).

2.6 Biotintas cargadas de células

En un esfuerzo por avanzar en el desarrollo de nuevas biotintas, que incluyan matrices extracelulares para la bioimpresión 3D de andamios que contengan células, mi grupo y otros grupos de investigación estamos explorando nuevos métodos de alto rendimiento (en inglés, *high-throughput*) para evaluar el potencial de nuevas composiciones de materiales en la bioimpresión efectiva y

reproducible de estructuras celulares. En 2020, se publicó en la revista *Bioprinting* la implementación de uno de estos métodos de alto rendimiento para probar diferentes hidrogeles, a base de colágeno, gelatina, ácido hialurónico y alginato, en cuanto a su capacidad para promover la viabilidad, la proliferación y la diferenciación de células madre mesenquimales humanas[14]. Estos métodos robustos ofrecen información muy valiosa, ya que permiten evaluar de manera rápida y reproducible la biocompatibilidad de diferentes formulaciones de biotintas, utilizando cantidades mínimas de biomateriales y células madre.

2.7. Aditivos para bioimpresión 3D

Además de las biotintas en sí mismas, la incorporación de aditivos durante el proceso de bioimpresión puede mejorar la diferenciación de las células madre encapsuladas y la fidelidad de las estructuras bioimpresas. En un estudio publicado en la revista *Biofabrication* en 2022, se evaluó el interés de aditivos basados en fosfato de calcio para estimular la diferenciación osteogénica de biotintas cargadas con células madre mesenquimales, y la capacidad de algunos aditivos basados en glucosaminoglicanos para incrementar la diferenciación condrogénica de biotintas cargadas con células madre mesenquimales, en ingeniería de tejido osteocondral[15]. Además, se evaluó la idoneidad de una gama de

---

[14] *Bedell, M.L., Melchiorri, A.J., Aleman, J., Skardal, A., Mikos, A.G. (2020). A high-throughput approach to compare the biocompatibility of candidate bioink formulations. Bioprinting, 17:e00068.*

[15] *Bedell, M. L., Torres, A. L., Hogan, K. J., Wang, Z., Wang, B., Melchiorri, A. J., Grande-Allen, K. J., Mikos, A. G. (2022). Human gelatin-based composite hydrogels for osteochondral tissue engineering and their adaptation into bioinks for extrusion, inkjet, and digital light processing bioprinting. Biofabrication, 14(4), 10.1088/1758-5090/ac8768*

biotintas para diferentes modalidades de bioimpresión 3D, como la extrusión, la inyección de tinta y la fotopolimerización, con el objetivo de desarrollar una biotinta universal para múltiples métodos de impresión 3D. También se analizó el papel de una amplia variedad de aditivos de impresión para mejorar las propiedades reológicas de las biotintas, específicamente los cambios en viscosidad, que son fundamentales para la bioimpresión 3D.[15]

En el estudio, se demostró que bajas concentraciones de goma de xantano y colágeno nanofibrilado aumentan tanto la viscosidad como la pseudoplasticidad de las biotintas, en comparación con aditivos específicos para tejidos como el ácido hialurónico y el beta fosfato tricálcico. El cambio en el comportamiento reológico, en particular el aumento de la viscosidad en reposo, facilita la imprimibilidad de andamios conteniendo células, pero hay que tener en cuenta que un incremento de viscosidad puede ser perjudicial para la viabilidad de las células encapsuladas en los andamios bioimpresos, por lo que es necesario llegar a un compromiso en la concentración del aditivo para compatibilizar una adecuada imprimibilidad con una alta viabilidad celular.

2.8. Bioimpresión 3D de hidrogeles con gradientes

En la ingeniería de tejidos interfaciales, como la de tejidos osteocondrales que comprenden una interfaz entre hueso y cartílago, la arquitectura del andamio es crucial, ya que determina la composición a nivel local y, por lo tanto, la señalización celular. En un estudio publicado en *Acta Biomaterialia* en 2023, se recoge el

impacto que tiene la arquitectura multimaterial en la integración osteocondral de andamios bioimpresos[16].

Se prepararon fibras bioimpresas segmentadas y con gradiente de composición que incluían células madre mesenquimales humanas. Para ello, se emplearon dos tipos de tintas: una biotinta similar a hueso con aditivos de fosfato tricálcico y una biotinta similar a cartílago que incluía glucosaminoglicanos. Los andamios se cultivaron *ex vivo*, durante tres semanas, en un defecto osteocondral porcino de 4 mm de espesor, que comprendía una capa de cartílago de 2 mm y otra de hueso de 2 mm. Transcurridas las 3 semanas, se evaluó mecánicamente la integración del andamio en los tejidos y se llevaron a cabo análisis bioquímicos e histológicos para cuantificar la deposición de matriz y la infiltración celular en la interfaz. Las fibras con gradiente mostraron una buena integración en la interfase con un cambio progresivo en su composición, mientras que en las segmentadas se observó una transición abrupta de un tejido a otro. Además, la caracterización de los cambios de composición, utilizando microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de rayos X, reveló la distribución de beta fosfato tricálcico de la biotinta para hueso a través de la interfaz, así como la presencia de carbono en ambas biotintas.

En resumen, nuestros hallazgos demuestran que la creación de gradientes multimateriales mediante bioimpresión induce gradientes fenotípicos que afectan a la integración del andamio y a la formación de los nuevos tejidos.

---

[16] *Bedell, M. L., Wang, Z., Hogan, K. J., Torres, A. L., Pearce, H. A., Chim, L. K., Grande-Allen, K. J., Mikos, A. G. (2023). The effect of multi-material architecture on the ex vivo osteochondral integration of bioprinted constructs. Acta Biomater., 155:99–112.*

2.9. Agentes reticulantes para tejidos específicos

En 2019, presentamos en *Science Advances* la síntesis de nuevos agentes reticulantes modulares, biodegradable y específicamente diseñados para tejidos, que se designan abreviadamente como PdBT[17]. Estos agentes tienen grupos terminales sulfhidrilo para la reticulación química, segmentos de poliéster para la degradabilidad hidrolítica, y grupos alquino para la unión clic en medios acuosos de moléculas bioactivas, tales como péptidos hidrofílicos, péptidos hidrofóbicos y grandes glucosaminoglicanos. Los agentes reticulantes específicos para tejidos se emplearon en el desarrollo de hidrogeles inyectables con doble gelificación térmica y química, basados en poli(N-isopropilacrilamida) y conjugados con biomoléculas específicas para tejidos. En particular, se sintetizaron copolímeros termogelificantes de N-isopropilacrilamida con glicidilmetacrilato para facilitar la gelificación química a través de una reacción tio-epoxi. El doble mecanismo de gelificación asegura la formación del hidrogel y evita la sinéresis, un fenómeno no deseado en aplicaciones de ingeniería de tejidos.

2.10. Hidrogeles para tejidos específicos

En una continuación de este estudio, publicado en *Acta Biomaterialia* en 2021, se evaluó la regeneración del tejido osteocondral mediante la implantación de hidrogeles celulares

---

[17] *Guo, J. L., Kim, Y. S., Xie, V. Y., Smith, B. T., Watson, E., Lam, J., Pearce, H. A., Engel, P. S., Mikos, A. G. (2019). Modular, tissue-specific, and biodegradable hydrogel cross-linkers for tissue engineering. Science Adv., 5(6):eaaw7396.*

bicapa[18]. Estos hidrogeles con células madre mesenquimales encapsuladas estaban compuestos por un hidrogel específico para cartílago y otro específico para hueso, funcionalizados con un péptido condrogénico y un péptido osteogénico, respectivamente. El hidrogel se implantó en un modelo de defecto osteocondral en conejo. Después de 12 semanas, los hidrogeles cargados con células madre mesenquimales y conteniendo péptidos condrogénicos mostraron un incremento en varios marcadores de regeneración del tejido osteocondral. Además, dieron lugar al llenado completo del defecto y a una superficie del cartílago más regular, en comparación con los hidrogeles sin células y con los que no tenían péptidos condrogénicos. Los hallazgos de este estudio demuestran la utilidad de los hidrogeles estratificados bioconjugados en la reparación de la unidad osteocondral.

En un estudio reciente publicado en el *Journal of Biomedical Materials Research Part A* en 2023, investigamos los efectos de la carga eléctrica y la temperatura crítica de disolución (LCST) en la infiltración celular y la integración del tejido en un modelo de explante de cartílago porcino[19]. Con este fin, se prepararon macrómeros duales con capacidad de gelificación térmica y química utilizando N-isopropilacrilamida, glicidil metacrilato para la reticulación química, ácido acrílico para ajustar el valor de la LCST,

---

[18] *Guo, J. L., Kim, Y. S., Koons, G. L., Lam, J., Navara, A. M., Barrios, S., Xie, V. Y., Watson, E., Smith, B. T., Pearce, H. A., Orchard, E. A., van den Beucken, J. J. J. P., Jansen, J. A., Wong, M. E., Mikos, A. G. (2021). Bilayered, peptide-biofunctionalized hydrogels for in vivo osteochondral tissue repair. Acta Biomater., 128:120–129.*

[19] *Pearce, H. A., Swain, J. W. R., Victor, L. H., Hogan, K. J., Jiang, E. Y., Bedell, M. L., Navara, A. M., Farsheed, A., Kim, Y. S., Guo, J. L., Hartgerink, J. D., Grande-Allen, K. J., Mikos, A. G. (2023). Thermogelling hydrogel charge and lower critical solution temperature influence cellular infiltration and tissue integration in an ex vivo cartilage explant model. J. Biomed. Mater. Res. Part A, 111(1):15–34.*

y dimetil-gamma-butirolactona para aumentar la LCST a lo largo del tiempo a medida que el anillo lactona se hidroliza. Específicamente, se sintetizaron macrómeros termogelificantes con 0%, 5% y 10% de dimetil-gamma-butirolactona; se conjugaron péptidos modelo con carga positiva, neutra y negativa (K4, K2E2 y E4, respectivamente) al reticulante químico; y se inyectaron los hidrogeles resultantes en el modelo de explante de cartílago.

Los resultados que se obtuvieron fueron sorprendentes. Aunque se esperaba una mejor integración en el tejido para los hidrogeles cargados positivamente debido a interacciones electrostáticas con los glucosaminoglicanos aniónicos de la matriz extracelular del cartílago, los ensayos mecánicos revelaron lo contrario. Es decir, se observó una integración del tejido significativamente mejor para hidrogeles aniónicos en comparación con los catiónicos y los neutros. Además, los hidrogeles con carga negativa que contenían un 5% y un 10% de dimetil-gamma-butirolactona mostraron infiltración celular y deposición de matriz similar al cartílago después de 21 días, según los análisis histológicos.

En resumen, nuestros datos prueban la importancia de la carga del hidrogel y de la temperatura crítica de disolución para el éxito de las estrategias de ingeniería de cartílago. La carga negativa facilita la difusión inicial de nutrientes y moléculas de la matriz extracelular hacia el hidrogel, mientras que los cambios en la hidrofilia del hidrogel en función de la temperatura promovieron la adsorción de proteínas que favorecen la infiltración y la adherencia celular. Por lo tanto, a través de un ajuste fino de estos parámetros es posible controlar el transporte a través de la interfaz hidrogel-tejido, lo que podría tener implicaciones significativas para la regeneración de tejidos.

2.11. Impresión 3D de tintas de doble gelificación

En otro estudio publicado en *Bioactive Materials* en 2022, adaptamos los hidrogeles inyectables de doble gelificación para su uso como tintas en la impresión por extrusión de alta resolución de estructuras multicapa a una escala de decenas de micrómetros dentro de un baño de soporte de poloxámero termorreversible[20]. Para ello, la tinta se enfrió a 12.5°C y luego se extruyó en el baño de soporte a 37°C, donde experimentó una gelificación térmica inmediata. Luego, se incubó durante 2 horas mientras se completaba la reticulación covalente antes de retirarlo y lavarlo para eliminar el material no reticulado. El baño de soporte mantuvo la estructura de la tinta en un entorno hidratado y a una temperatura óptima para el cultivo celular, mientras que la tinta experimentó una rápida gelificación térmica seguida de una reacción de reticulación covalente espontánea. Se observó que la concentración de la tinta de doble gelificación, la concentración de poloxámero en el baño de soporte y el diámetro de la boquilla de extrusión afectan a la calidad del objeto impreso, en particular al diámetro de las fibras, a la uniformidad de forma y al área de los andamios impresos. Sin lugar a duda, la viabilidad celular y la diferenciación también son aspectos críticos para los resultados de la impresión. En particular, los factores que inciden en la resolución de la impresión, como la concentración de materiales en la tinta y en el baño, afectan a la función celular debido a un efecto osmótico. Por su parte, el diámetro de la boquilla, que determina directamente el tamaño de la fibra, influye en la tensión de cizalla que se aplica sobre las células encapsuladas, lo que podría afectar a su viabilidad y a su fenotipo. Por lo tanto, desentrañar las

---

[20] *Navara, A. M., Kim, Y. S., Xu, Y., Crafton, C. L., Diba, M., Guo, J. L., Mikos, A. G. (2021). A dual-gelling poly(N-isopropylacrylamide)-based ink and thermoreversible poloxamer support bath for high-resolution bioprinting. Bioact. Mat., 14:302–312.*

conexiones entre la compleja red de variables del proceso de impresión resulta crucial antes de llevar los biomateriales imprimibles en 3D a ensayos clínicos.

Este mismo procedimiento de bioimpresión por termogelificación se utilizó para evaluar variables relativas a los materiales, como la concentración de tinta y de células, en la impresión de condrocitos[21]. Los dos factores afectaron a la viabilidad de los condrocitos; concentraciones altas de tinta y de células resultaron en una menor viabilidad. La evaluación de las propiedades reológicas del baño antes y después de la impresión permitió obtener información sobre las interacciones que se producen entre los componentes de la tinta y los componentes del baño. Se observó un descenso en la resistencia al flujo a medida que transcurría la impresión acompañado de una reducción del diámetro de la fibra a la salida de la boquilla, lo que indica que se produce una transferencia de masa entre los dos fluidos.

Este trabajo demostró el potencial de la técnica para imprimir andamios con células con alta resolución, al tiempo que reveló la existencia de relaciones complejas entre la tinta, el baño y la densidad celular que deben ser evaluadas con más detalle en el futuro.

2.12 Inteligencia Artificial (y aprendizaje automático) aplicada a la ingeniería de tejidos

Un campo en expansión que ha tenido un impacto significativo en varias tecnologías en los últimos años es la

[21] *Navara, A. M., Xu, Y., Perez, M. R., Mikos, A. G. (2023). Aspects of a Suspended Bioprinting System Affect Cell Viability and Support Bath Properties. Tissue Eng. Part A, en prensa.*

inteligencia artificial. En 2020, en colaboración con la Dra. Lydia Kavraki de la Universidad Rice, publicamos en *Tissue Engineering Part A* cómo el aprendizaje automático (en inglés, *machine learning*) puede orientar la impresión 3D basada en extrusión de andamios para la ingeniería de tejidos[22]. Los algoritmos de aprendizaje automático pueden aprovechar datos sobre la precisión de los materiales y la exactitud de las máquinas para diferentes composiciones de materiales y parámetros de impresión, para predecir la calidad de la impresión. Además, se demostró el valor del aprendizaje automático para el diseño de andamios nuevos o mejorados destinados a aplicaciones en ingeniería de tejidos. No cabe duda de que los avances en la inteligencia artificial en general y, en particular, en la subcategoría de aprendizaje automático, impulsarán el progreso en la ingeniería de tejidos en el futuro.

2.13. Modelado de tumores

La ingeniería de tejidos se ha beneficiado del progreso en otros campos, y a su vez, los avances en ingeniería de tejidos han dejado su huella en el desarrollo de otros ámbitos. Un campo particularmente interesante que surgió de la ingeniería de tejidos es el del modelado de tumores, que consiste en crear modelos para estudiar la biología del cáncer y evaluar estrategias terapéuticas preclínicas. Los métodos de evaluación de fármacos en cultivos en monocapa 2D no logran reproducir la complejidad del microambiente tumoral nativo, que desempeña un papel crucial en la iniciación, la propagación y la metástasis del cáncer. Por ejemplo,

---

22 *Conev, A., Litsa, E. E., Perez, M. R., Diba, M., Mikos, A. G., Kavraki, L. E. (2020). Machine Learning-Guided Three-Dimensional Printing of Tissue Engineering Scaffolds. Tissue Eng. Part A, 26(23-24):1359–1368*

el osteosarcoma, un tumor primario de hueso, tiene interacciones críticas con elementos únicos del microambiente óseo que afectan a su patogénesis. Los modelos de ingeniería de tejidos utilizan principios de diseño para crear modelos preclínicos de tumor que permiten el control espacio-temporal de elementos físicos y biológicos, facilitando así el estudio del entorno y la progresión del sarcoma[23].

2.13.1. Modelos tumorales con propiedades mecánicas ajustables

En un estudio publicado en *Acta Biomaterialia* en 2019, en colaboración con el Dr. Joseph Ludwig del MD Anderson Cancer Center de Houston, se utilizó la técnica de electrohilado coaxial para desarrollar un modelo tridimensional de tumor con propiedades mecánicas ajustables, con el fin de investigar los efectos de la rigidez y la arquitectura del sustrato sobre el osteosarcoma[24,25]. Nuestros hallazgos revelaron que las células de osteosarcoma presentaban una mayor translocación nuclear de los efectores de la vía Hippo, YAP y TAZ, a medida que disminuía la rigidez del sustrato. Además, se

---

[23] *Molina, E. R., Chim, L. K., Barrios, S., Ludwig, J. A., Mikos, A. G. (2020). Modeling the Tumor Microenvironment and Pathogenic Signaling in Bone Sarcoma. Tissue Eng. Part B, Reviews, 26(3):249–271.*

[24] *Molina, E. R., Chim, L. K., Salazar, M. C., Mehta, S. M., Menegaz, B. A., Lamhamedi-Cherradi, S. E., Satish, T., Mohiuddin, S., McCall, D., Zaske, A. M., Cuglievan, B., Lazar, A. J., Scott, D. W., Grande-Allen, J. K., Ludwig, J. A., Mikos, A. G. (2019). Mechanically tunable coaxial electrospun models of YAP/TAZ mechanoresponse and IGF-1R activation in osteosarcoma. Acta Biomater., 100:38–51.*

[25] *Molina, E. R., Chim, L. K., Lamhamedi-Cherradi, S. E., Mohiuddin, S., McCall, D., Cuglievan, B., Krishnan, S., Porter, R. W., Ingram, D. R., Wang, W. L., Lazar, A. J., Scott, D. W., Truong, D. D., Daw, N. C., Ludwig, J. A., Mikos, A. G. (2022). Correlation of nuclear pIGF-1R/IGF-1R and YAP/TAZ in a tissue microarray with outcomes in osteosarcoma patients. Oncotarget, 13:521–533.*

registró una regulación negativa del eje IGF-1R/mTOR, que es la diana de ensayos clínicos recientes en sarcoma, lo que resultó en una mayor resistencia a la quimioterapia en comparación con los controles en monocapa. Estos resultados son muy relevantes tanto para la ingeniería de tejidos como para la oncología, ya que prueban la utilidad de los modelos tridimensionales de cáncer para reproducir fielmente el microambiente tumoral nativo y la respuesta celular a los tratamientos.

El microambiente tumoral está formado por una población heterogénea de células que interactúan de manera dinámica, contribuyendo tanto al avance como a la supresión de la progresión del cáncer. Entre estas células, los macrófagos asociados al tumor juegan un papel crucial en la regulación del crecimiento tumoral mediante señales pro- o anti-inflamatorias. En un estudio publicado en *Biomaterials* en 2023, se empleó nuestro modelo de tumor 3D electrohilado para explorar cómo los macrófagos asociados al tumor y las propiedades mecánicas del microambiente afectan al osteosarcoma[26]. Para ello, se cultivaron poblaciones mixtas de células de osteosarcoma humano y macrófagos sobre biomateriales de rigidez ajustable, y se observó que los entornos más rígidos desencadenaban una respuesta inflamatoria de los macrófagos. Además, se encontró una correlación entre la resistencia al tratamiento con doxorrubicina en el osteosarcoma y la inflamación en el microambiente. Estos hallazgos ponen de manifiesto la influencia de las señales bioquímicas de los macrófagos asociados al tumor en el comportamiento celular del osteosarcoma y en la respuesta a los fármacos, subrayando la importancia de considerar el sistema inmune en la búsqueda de nuevos tratamientos contra el cáncer.

---

[26] *Chim, L. K., Williams, I. L., Bashor, C. J., Mikos, A. G. (2023). Tumor-associated macrophages induce inflammation and drug resistance in a mechanically tunable engineered model of osteosarcoma. Biomater., 296:122076.*

2.13.2. Modelos tumorales osteomiméticos

Además del interés que encierran los modelos de tumor primario, los modelos en 3D también son útiles en el estudio del cáncer metastásico en hueso. En colaboración con la Dra. Eleonora Dondossola del MD Anderson Cancer Center, hemos desarrollado un entorno mimético óseo (BME, por sus siglas en inglés) capaz de sustentar el crecimiento de células de xenoinjertos derivadas de pacientes (PDX) tanto *ex vivo* como *in vivo*. El BME consiste en un andamio de poli(ε-caprolactona) poblado por células madre mesenquimales humanas diferenciadas en osteoblastos. En un estudio publicado en *Acta Biomaterialia* se observó que los BME facilitaban el crecimiento y la respuesta terapéutica de las células PDX aisladas de las metástasis en hueso de tumores de próstata y renal, tanto en entornos *ex vivo* como *in vivo*[27]. En este trabajo se demostró el valor adicional de los BME en combinación con las células de xenoinjertos procedentes de pacientes como un enfoque fiable y reproducible para expandir estas células mediante trasplantes seriados y ampliar su aplicación en el estudio de la respuesta terapéutica de los tumores.

2.14 Modelado de respuesta a cuerpos extraños

También en colaboración con la Dra. Eleonora Dondossola del MD Anderson Cancer Center, y aprovechando su experiencia en microscopía multifotón intravital, utilizamos nuestros andamios

---

[27] *Paindelli, C., Parietti, V., Barrios, S., Shepherd, P., Pan, T., Wang, W. L., Satcher, R. L., Logothetis, C. J., Navone, N., Campbell, M. T., Mikos, A. G., Dondossola, E. (2024). Bone mimetic environments support engineering, propagation, and analysis of therapeutic response of patient-derived cells, ex vivo and in vivo. Acta Biomater., 178:83–92.*

electrohilados para investigar la reacción de cuerpo extraño. Este fenómeno es clínicamente relevante ya que a menudo conduce al mal funcionamiento de los productos sanitarios implantados debido a la formación de una cápsula fibrosa alrededor de ellos. Aunque los aspectos inflamatorios de esta respuesta han sido estudiados, los mecanismos subyacentes relacionados con los fibroblastos aún encierran incógnitas. En un estudio publicado en *Science Advances* en 2022, utilizando ratones transgénicos, se investigó la dinámica de los fibroblastos locales, su activación y la formación de la cápsula fibrosa alrededor de estos andamios poliméricos preparados con una amplia gama de tamaños de poro (Figura 4).[28] Se encontró que el reclutamiento de fibroblastos y la extensión de la fibrosis se inhibían parcialmente mediante la depleción de macrófagos, lo que sugiere la existencia de mediadores tanto dependientes como independientes de los macrófagos. Ni el tipo de polímero ni el tamaño de poro afectaron al reclutamiento y la distribución de los fibroblastos. Por lo tanto, la combinación de microambientes proporcionados por los andamios 3D y de técnicas de microscopía avanzada ofrece oportunidades únicas para estudiar fenómenos biológicos que no han sido observado hasta ahora.

[28] *Parlani, M., Bedell, M. L., Mikos, A. G., Friedl, P., Dondossola, E. (2022). Dissecting the recruitment and self-organization of aSMA-positive fibroblasts in the foreign body response. Sci. Adv., 8(51):eadd0014*

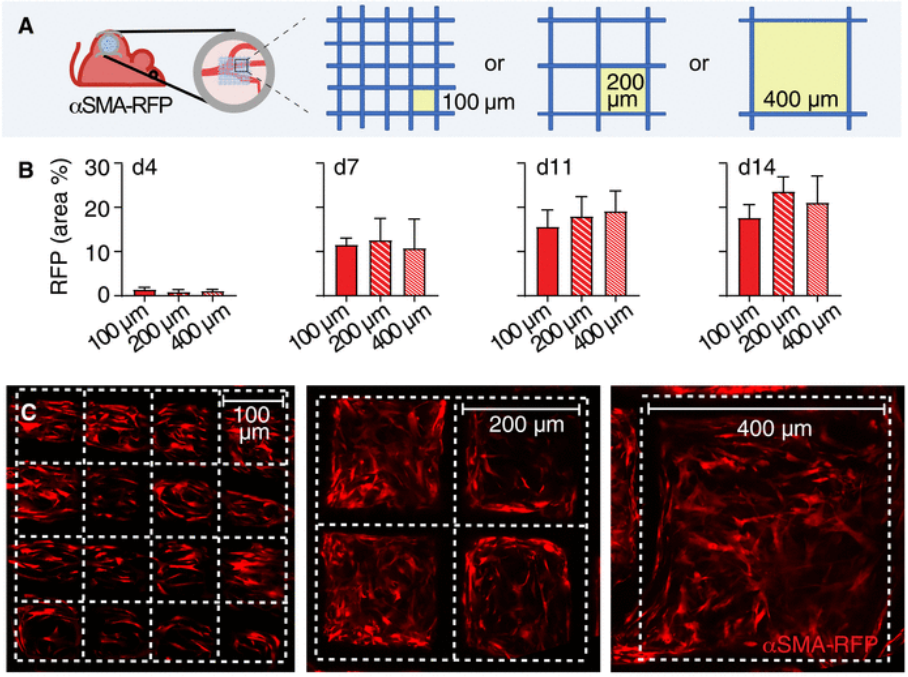

Figura 4: (A) Esquema del modelo utilizado para evaluar andamios de tres tamaños de poro diferentes (tamaños de poro de 100 × 100, 200 × 200 y 400 × 400 µm) en el pliegue dorsal cutáneo de ratones. (B) Cantidad total de células αSMA-RFP+ reclutadas, medidas como porcentaje de área ocupada en los días 4, 7, 11 y 14. (C) Imágenes de la distribución de fibroblastos en los tres tipos de andamios. Las líneas punteadas indican la posición del andamio. Adaptado de Parlani, M., Bedell, M. L., Mikos, A. G., Friedl, P., Dondossola, E. (2022). Dissecting the recruitment and self-organization of αSMA-positive fibroblasts in the foreign body response. Sci. Adv., 8(51):eadd0014, con licencia Creative Commons 4.0 (CC BY).

2.15. Andamios magnetoeléctricos

La capacidad de utilizar señales externas para lograr efectos terapéuticos tiene un valor excepcional en la ingeniería de tejidos. En colaboración con el Dr. Jacob Robinson de la Rice University, hemos aprovechado los materiales magnetoeléctricos para convertir campos magnéticos en campos eléctricos, lo que permite la

estimulación remota del tejido neural. En un estudio recientemente publicado en *Nature Materials*, se describe un metamaterial magnetoeléctrico auto-rectificante diseñado para una estimulación neural precisa y sincronizada[29]. Esta investigación ilustra el amplio potencial de los metamateriales magnetoeléctricos en la regeneración de una variedad extensa de tejidos, por su capacidad para generar un voltaje de polarización estable en respuesta a un campo magnético alterno, que los hace idóneos para estimular los nervios periféricos de forma inalámbrica.

2.16 Agradecimientos

Para concluir, deseo expresar mi más sincero y profundo agradecimiento a mi supervisor de Tesis Doctoral, el Profesor Nicholas Peppas, y a mis mentores postdoctorales, los Profesores Robert Langer y Joseph Vacanti, por su inquebrantable apoyo a lo largo de todas las etapas de mi carrera. Estoy eternamente agradecido por sus continuos consejos y amistad a lo largo de los años.

Además de contar con excelentes mentores, me siento afortunado por haber colaborado con docenas de valiosos colegas en todo el mundo. En España, quiero expresar mi reconocimiento al Dr. Luis Díaz-Gómez por su colaboración y amistad en los últimos años.

También deseo reconocer mi colaboración continua con diversas agencias de financiación, tanto públicas como privadas,

[29] *Chen, J. C., Bhave, G., Alrashdan, F., Dhuliyawalla, A., Hogan, K. J., Mikos, A. G., Robinson, J. T. (2024). Self-rectifying magnetoelectric metamaterials for remote neural stimulation and motor function restoration. Nat. Mat., 23(1):139–146.*

que han respaldado mi trabajo en la realización de investigaciones para abordar necesidades clínicas no cubiertas.

Durante los últimos 30 años, he tenido el privilegio de formar a numerosos estudiantes, y debo decir que ellos me han enseñado tanto como yo a ellos. Una de las mayores satisfacciones que he experimentado en esta última etapa de mi carrera es ver los logros de mis alumnos mucho después de que hayan dejado mi laboratorio. Estoy muy agradecido a todos ellos.

Por último, reitero mi agradecimiento a la Real Academia de Farmacia de Galicia por este inmenso honor.

3. Curriculum Vitae abreviado

Antonios G. Mikos is the Louis Calder Professor of Bioengineering and Chemical and Biomolecular Engineering at Rice University. He is the Director of the Biomaterials Lab, the Director of the Center for Excellence in Tissue Engineering, and the Director of the J.W. Cox Laboratory for Biomedical Engineering at Rice University. He received his Dipl. Eng. (1983) from the Aristotle University of Thessaloniki, Greece, and his Ph.D. (1988) in Chemical Engineering from Purdue University. He was a postdoctoral researcher at the Massachusetts Institute of Technology and the Harvard Medical School before joining the Rice University Faculty in 1992.

Mikos is a Member of the National Academy of Engineering, a Member of the National Academy of Medicine, a Member of the International Academy of Medical and Biological Engineering, a Member of the Chinese Academy of Engineering, a Member of the Academia Europaea, a Member of the Academy of Medicine, Engineering and Science of Texas, and a Member of the Academy of Athens. He is a Founding Fellow of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society, a Fellow of the American Association for the Advancement of Science, a Fellow of the American Institute for Medical and Biological Engineering, a Fellow of the American Institute of Chemical Engineers, a Fellow of the Biomedical Engineering Society, a Fellow of the Controlled Release Society, a Fellow of the

International Union of Societies for Biomaterials Science and Engineering, and a Fellow of the National Academy of Inventors.

Mikos holds international acclaim as a global pioneer in the application of fundamentals of engineering and biological sciences toward the development of biomaterials for a wide variety of biomedical uses, ranging from controlled drug delivery and gene therapy to tissue engineering and regenerative medicine. His research has led to the development of novel orthopaedic, dental, cardiovascular, neurologic, and ophthalmologic biomaterials. Over the years, he has raised over 32 million dollars for his research from the National Institutes of Health, the National Science Foundation, the Department of Defense, numerous foundations, and industry. The tremendous and lasting impact of his exceptional productivity is clearly reflected by his authorship of more than 700 publications, which collectively have garnered over 100,000 citations and achieved an h-index of 166.

Mikos has mentored and supervised 70 Ph.D. students and 40 postdoctoral fellows, 24 of whom remain in academia further expanding Mikos' already broad and lasting influence on the field. He has given over 800 presentations in national and international meetings and over 220 invited seminars at universities and companies. He is the editor of 15 books including *Tissue Engineering Principles and Practices* (CRC Press, 2013) and *Principles of Regenerative Medicine* (Elsevier Academic Press, 2019). He is the author of the premier undergraduate textbook on biomaterials (*Biomaterials: The Intersection of Biology and Materials Science*, Pearson, 1st Ed., 2008, and 2nd Ed., 2023).

Mikos' work brought paradigmatic shifts in the way researchers approach biomaterials for regenerative medicine and enabled the rational design of scaffolds by his laboratory and

others for site-specific tissue regeneration, which remains a cornerstone in tissue engineering and has been the basis for countless clinical products. Recognizing the potential for biologically active factors to promote tissue regeneration, Mikos made landmark innovations in the controlled release and delivery of therapeutics, ranging from nucleic acids to growth factors, which he and many others have leveraged to promote regeneration of tissues and complex tissue interfaces. Controlled delivery of therapeutics continues to serve as a fundamental component of virtually every successful regenerative medicine product on the market. Interestingly, the technologies Mikos and his associates developed have allowed the controlled delivery of therapeutics for innumerable additional applications, such as the local release of antibiotics to address osteomyelitis and the intra-articular release of anti-inflammatory siRNA for the treatment of joint disorders.

Mikos pioneered the synthesis of non-viral gene delivery vectors combining synthetic polymers with naturally-derived moieties, which paved new avenues for increasing transfection efficiency by leveraging cell receptor-mediated pathways. He contributed greatly to the development of chemically functionalized nanoscale materials toward the fabrication of biodegradable nanocomposite scaffolds for load-bearing tissue engineering applications, which forged new paths in overcoming the challenges associated with dispersion and integration of nanomaterials in highly porous nanocomposite structures. Moreover, he developed biodegradable hydrogel systems for the controlled spatiotemporal delivery of multiple growth factors alone or in combination with encapsulated stem cell populations to promote repair of tissue defects, which enabled the mechanistic study of the effects of growth factor and stem cell delivery on

inducing directed tissue repair in a variety of tissues including bone, cartilage, lens, and myocardium.

Mikos revolutionized the development of flow perfusion bioreactors for cell culture and provided seminal contributions regarding the effects of mass transport and fluid shear forces on cell viability and directed differentiation in three-dimensions. He designed flow perfusion bioreactor systems for the engineered three-dimensional culture of stem cell populations, which made possible the coating of a biologically inert scaffold material with a biologically active extracellular matrix produced by cells in culture. His approach generated tissue-inducing materials for use as acellular scaffolds to guide tissue regeneration *in vivo*, thereby transforming the thinking regarding growth factor delivery for tissue engineering applications. He also applied flow perfusion bioreactor systems toward the development of novel tissue-engineered tumor models, which present enormous potential to produce high throughput drug screening for personalized medicine approaches for cancer treatment.

Research in Mikos' laboratory at Rice University continues in these areas and other emerging areas at the frontier of tissue engineering and regenerative medicine. As his citation count indicates, his discoveries are tremendously impactful. Importantly, the impact of his work has been felt already by those outside of the academic community. For example, he has founded or been involved with several successful start-up companies and his work has had major impact both in the tissue engineering and the "combination products" fields, two fields with combined markets of several billion dollars annually. Mikos has also directed the translation of regenerative solutions for the treatment of battlefield injuries in his role as a program leader in the craniofacial

reconstruction focus area of the Armed Forces Institute of Regenerative Medicine since 2008. Significant aspects of his technology have been translated to the clinic to address aesthetically and functionally devastating large craniofacial bony defects. In parallel, he maintains a steadfast commitment to fostering the commercial development of his inventions, as evidenced by his 32 patents, which have been licensed by leading and emerging biotechnology companies.

Mikos' impact has also been recognized by his peers through a number of diverse awards and honors including the *Jensen Tissue Engineering Award* of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Global and the *Lifetime Achievement Award* of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society-Americas, the *Founders Award* and the *Clemson Award for Contributions to the Literature* of the Society For Biomaterials, *the Founders Award* of the Controlled Release Society, the *Robert A. Pritzker Distinguished Lecturer Award* and the *Shu Chien Achievement Award* of the Biomedical Engineering Society, the *Biomaterials Global Impact Award*, the *Acta Biomaterialia Gold Medal*, the *International Award* of the European Society for Biomaterials, the *Excellence in Surface Science Award* of the Surfaces in Biomaterials Foundation, the *Alpha Chi Sigma Award for Chemical Engineering Research*, the *James E. Bailey Award in Biological Engineering*, and the *Cato T. Laurencin Regenerative Engineering Founder's Award* of the American Institute of Chemical Engineers, the *Meriam/Wiley Distinguished Author Award* of the American Society for Engineering Education, the *Edith and Peter O'Donnell Award in Engineering* of the Academy of Medicine, Engineering and Science of Texas, the *Marshall R. Urist Award for Excellence in Tissue Regeneration Research* of the Orthopaedic Research Society, the *Distinguished Scientist Award - Isaac Schour Memorial Award* of the International Association for

Dental Research, and the *Distinguished Engineering Alumnus Award* of Purdue University, as well as *Honorary Doctorates* from the Aristotle University of Thessaloniki and the University of Crete, Greece.

Mikos serves the scientific community in a number of leadership positions, including serving as past president of the Society For Biomaterials and the Americas chapter of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society. He is the organizer of the *Advances in Tissue Engineering* continuing education course offered annually at Rice University since 1993, and the organizer of the *Aegean Conference on Tissue Engineering* held in Greece every three years since 2002. He is a member of the editorial boards of the journals *Advanced Drug Delivery Reviews*, *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, *Journal of Biomedical Materials Research (Part A and B)*, *Journal of Controlled Release*, and *Regenerative Biomaterials*. He has served science and engineering in a most impactful way as the founding editor and editor-in-chief of the journals *Tissue Engineering Part A, Tissue Engineering Part B: Reviews, and Tissue Engineering Part C: Methods*. Under his leadership of 30 years, *Tissue Engineering* remains the premier journal of his field.