



**ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA**

Discurso leído en la sesión inaugural del  
curso académico 2018

**TECNOLOGÍAS ADITIVAS EN MEDICINA REGENERATIVA:  
DE LAS PRÓTESIS A LOS ARDAMIAGES**

**ILMO. SR. DR. ANSEL CONCHEIRO NIRE**  
Académico Numerario



Santiago de Compostela

31 de Enero de 2018

Academia de Farmacia de Galicia

## ÍNDICE

1. Introducción	5
2. Cicatrización, reparación y regeneración tisular	8
3. Aproximaciones terapéuticas	10
3.1. Terapia celular	11
3.2. Prótesis implantables	12
3.3. Injertos	13
3.4. Andamiajes	14
4. Preparación de andamiajes	16
4.1. Técnicas convencionales	16
4.2. Espumado con CO <sub>2</sub> supercrítico	17
4.3. Electrohilado	18
4.4. Manufactura aditiva	19
5. Conclusión	23

Academia de Farmacia de Galicia

Excmo. Sr. Presidente de la Academia de Farmacia de Galicia,  
Ilmos. Sres. Académicos,  
Autoridades,  
Señoras y Señores,

De acuerdo con el turno que se establece en los Estatutos de la Academia, me corresponde pronunciar el discurso de Apertura del Curso 2018, un compromiso que asumo, como no podía ser de otra manera, consciente de la responsabilidad que supone intervenir en un acto de tanta relevancia para la Institución como el que se celebra en el día de hoy. A la hora de elegir el contenido del discurso, he procurado seleccionar un tema que permita resaltar la repercusión de los avances de la tecnología farmacéutica y la ciencia de los materiales sobre la calidad de vida de las personas, y creo que la manufactura aditiva es un buen ejemplo de un desarrollo tecnológico que aporta soluciones personalizadas a problemas de tanta trascendencia sanitaria, social y económica como los que se plantean en el ámbito de la medicina regenerativa.

## 1. INTRODUCCIÓN

Como se señala en un reciente informe de las Naciones Unidas, estamos viviendo un período de envejecimiento de la población que no tiene precedentes en la historia de la humanidad. Se prevé que en 2050 el número de personas con más de 60 años alcance los 2.100 millones<sup>1</sup> y, en este contexto, España es uno de los países con una media de edad más elevada.<sup>2</sup> Es cierto que el envejecimiento de la población es en muchos aspectos el resultado de un éxito demográfico, que se ha visto impulsado por un desarrollo económico y social que se plasma en una extraordinaria mejora de las condiciones de vida, pero el envejecimiento lleva directamente asociado un crecimiento exponencial de los costos de la salud, que en 2011 ya representaban alrededor del 8% del Producto Interior Bruto en los estados miembros de la Unión Europea.

La movilidad, la independencia y la calidad de vida de más de 100 millones de europeos mayores de 65 años está condicionada por enfermedades de hueso y cartílago.

---

<sup>1</sup> [http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/ageing/WPA2015\\_Report.pdf](http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/ageing/WPA2015_Report.pdf)

<sup>2</sup> <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/22018>

Los defectos osteocondrales no son fáciles de reparar ni siquiera con cirugía reconstructiva debido a la dificultad que encierra la restauración de la integridad y de las funciones naturales del cartílago. En consecuencia, las lesiones tienden a hacerse persistentes y pueden causar osteoartritis; una enfermedad degenerativa prevalente y grave que afecta aproximadamente al 50% de la población de más de 60 años, y que se ha convertido en la cuarta causa de discapacidad. Todo ello plantea la necesidad de desarrollar estrategias de regeneración coste-efectivas como parte de las políticas de envejecimiento activo de la Unión Europea, el Estado y las Comunidades Autónomas.

Las necesidades de reparar o regenerar tejidos se pueden manifestar también a edades más tempranas. La actividad diaria origina desgastes por esfuerzos y hábitos posturales inadecuados, y nos expone a accidentes en las tareas domésticas, en los desplazamientos y en el trabajo. En España, los accidentes laborales alcanzaron en 2016 una cifra próxima al medio millón.<sup>3</sup>

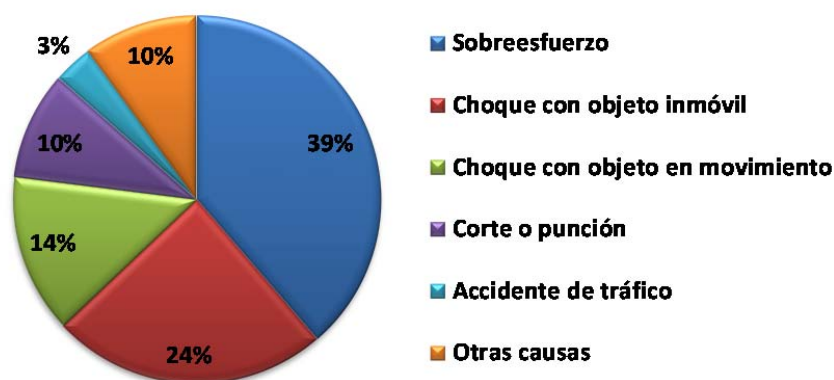


Figura 1. Causas de lesión en accidentes laborales en España en 2016.<sup>3</sup>

Entre las lesiones más comunes se cuentan las dislocaciones, los esguinces y las torceduras, que representaron el 50% del total, seguidas de las heridas y las lesiones superficiales que superaron el 25%. Las fracturas de huesos, las conmociones y las lesiones internas supusieron un 20% (Figura 2).

<sup>3</sup> [http://www.empleo.gob.es/estadisticas/eat/eat16/TABLAS%20ESTADISTICAS/ATR\\_2016\\_Resumen.pdf](http://www.empleo.gob.es/estadisticas/eat/eat16/TABLAS%20ESTADISTICAS/ATR_2016_Resumen.pdf)



Figura 2. Lesiones más frecuentes en accidentes laborales en España en 2016.<sup>3</sup>

En la **práctica del deporte** los tejidos y las articulaciones se someten a esfuerzos que, como es sabido, también pueden ser causa de lesiones incluso cuando se siguen programas de entrenamiento bien planificados. Según una reciente encuesta sobre hábitos deportivos en España, más de la mitad de las personas con edad comprendida entre 15 y 65 años refiere la práctica de alguna actividad deportiva al menos una vez a la semana.<sup>4</sup> Entre los hombres es más frecuente la práctica del fútbol, el baloncesto, el tenis, el ciclismo o el pádel, mientras que las mujeres se decantan mayoritariamente por la gimnasia y la natación. El porcentaje de lesiones asociadas a la práctica del fútbol es el más alto, pero las que requieren periodos de rehabilitación más prolongados son las relacionadas con el atletismo, el pádel, y el tenis. En deportistas de tan alto nivel como los que participan en Juegos Olímpicos el problema tiene también una gran importancia, y cerca de un 10% sufren lesiones graves.<sup>5</sup>

Por otra parte, las úlceras cutáneas causadas por la diabetes, las enfermedades vasculares periféricas y los trastornos que dificultan la movilidad de los pacientes se pueden convertir en un problema crónico difícil de tratar. La diabetes es una enfermedad pandémica con una tasa de expansión alarmante<sup>6</sup> que, además de causar complicaciones sistémicas agudas y crónicas, altera la estructura vascular periférica y las terminaciones nerviosas, incrementando la prevalencia de úlceras en la piel.

<sup>4</sup> <http://www.mecd.gob.es/servicios-al-ciudadano-mecd/estadisticas/deporte/encuesta-habitos-deportivos.html>

<sup>5</sup> <https://www.fencing.net/13020/fencing-safer-than-badminton/>

<sup>6</sup> <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>

Las tecnologías de vanguardia ofrecen la posibilidad de abordar de manera efectiva la reparación y la regeneración de tejidos, y pueden contribuir de forma muy notable a mejorar la calidad de vida tanto de personas mayores como jóvenes.

## 2. CICATRIZACIÓN, REPARACIÓN Y REGENERACIÓN TISULAR

Las distintas especies animales presentan diferencias muy marcadas en su capacidad para recuperar tejidos lesionados. Es importante distinguir entre curación de heridas o cicatrización, reparación y regeneración de tejidos. En los mamíferos, la **curación** de las heridas en la piel consiste en la recuperación parcial o total de su función mediante el reemplazamiento del tejido perdido por una cicatriz fibrótica de características distintas a las del tejido original. La **reparación** es un proceso más avanzado que conduce a la restauración funcional del órgano dañado a través de una reconstrucción en tres dimensiones no guiada. Por último, el término **regeneración** hace referencia a un proceso de recuperación o restablecimiento de la estructura y la función de órganos o partes del cuerpo dañadas o amputadas.<sup>7</sup> La capacidad de regeneración se atenúa a medida que se avanza en la escala evolutiva.

La regeneración se puede producir por tres mecanismos: epimorfosis, morfálaxis y crecimiento compensatorio. La **regeneración epimórfica** implica la formación de un blastema, que es una masa de células desdiferenciadas, encargadas de los procesos de proliferación celular y rediferenciación de estructuras perdidas por amputaciones u otros daños mecánicos. Tanto las células madre como las células diferenciadas pueden contribuir a la formación de blastema. Este proceso requiere una importante plasticidad en términos de cambios en el ciclo celular, la proliferación, la desdiferenciación y la transdiferenciación.

La **regeneración por morfálaxis** se produce por transformación de partes del cuerpo o tejidos pre-existentes en estructuras nuevas. Implica una des-diferenciación seguida de proliferación, y requiere una etapa posterior de diferenciación a células especializadas para completar la reconstrucción del tejido. La regeneración epimórfica y la regeneración por morfálaxis son los mecanismos que hacen posible la recuperación completa de extremidades amputadas en salamandras, estrellas de mar, y otras especies animales.

---

<sup>7</sup> B. Galliot, M. Crescenzi, A. Jacinto, S. Tajbakhsh. Trends in tissue repair and regeneration. *Development* 144, 357-364, 2017.



Por último, en la **regeneración compensatoria** las células se dividen manteniendo su diferenciación, sin que se formen masas de células indiferenciadas. El crecimiento compensatorio, típico de los mamíferos, limita las posibilidades de regeneración a la reparación de algunos tejidos en los que se consigue con dificultad una reproducción exacta de la estructura original. En el hombre se puede producir regeneración compensatoria principalmente en el hígado, aunque también se autorregeneran el pelo, las uñas, la piel, las mucosas, el endometrio, la sangre, los músculos, y los huesos.

En ausencia de lesiones, los tejidos humanos se regeneran de forma natural, reemplazando células envejecidas por células nuevas. El tiempo de regeneración es diferente para cada tejido; por ejemplo, el tejido cutáneo no lesionado se regenera en dos semanas mientras que un **hueso** necesita 10 años para regenerarse completamente.<sup>8</sup>

Cuando un tejido se lesiona, el organismo responde con una reacción de emergencia que conduce a la formación de tejido cicatricial más que a una respuesta regenerativa. La posibilidad de autorregeneración depende del **tamaño de la lesión**. En la piel, las heridas de tamaño inferior a 2 mm se pueden regenerar de manera natural antes de que ocurra la cicatrización. En cambio, si se quiere evitar la cicatrización de heridas de más de 3 mm, hay que insertar un material para que actúe de puente entre los márgenes e induzca la regeneración. En el caso del hueso, cuando la lesión supera una determinada dimensión, la reparación del tejido se vuelve más difícil o incluso no se llega a producir. Se denomina **defecto crítico** a una lesión que no cura espontáneamente, aun cuando se establezca por medios quirúrgicos.<sup>9</sup> En osteotomías de tamaño no crítico, el proceso de curación conduce a la formación de un puente óseo que crece desde el interior (callo endosteal) hacia el exterior (callo periosteal). El puente facilita la transmisión de cargas mecánicas y hace posible que se desarrollen en el hueco nanoestructuras y microestructuras, que evolucionan hacia la estructura ordenada original del hueso cortical. En cambio, cuando los extremos de la lesión están muy separados, no se forma el puente, el callo crece siguiendo la curvatura del hueso y la presión no se transmite. Esto conduce a que el tejido en crecimiento se oriente de manera incorrecta y no se repare la lesión. La dimensión del defecto crítico varía

---

<sup>8</sup> Office of the Surgeon General (US). *Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General*. Rockville (MD): Office of the Surgeon General (US); 2004. 2, The Basics of Bone in Health and Disease. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45504/>

<sup>9</sup> Z. Sheikh, S. Najeeb, Z. Khurshid, V. Verma, H. Rashid, M. Glogauer. Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications. *Materials* 8, 5744-5794, 2015.

considerablemente entre especies; en humanos es de 25 mm.<sup>10,11</sup> Con la edad la respuesta regenerativa se hace menos eficaz, y tienden a predominar las cicatrices fibróticas y la cicatrización patológica.

### 3. APROXIMACIONES TERAPÉUTICAS

En medicina regenerativa, los tres elementos clave son las **células** que deben crecer y diferenciarse para formar el tejido, el **sustrato tridimensional** que sirve de nicho a las células para su desarrollo y facilita la formación de un tejido con estructura organizada, y las **señales o factores de crecimiento** que atraen células y regulan su crecimiento y diferenciación. En órganos con capacidad regenerativa innata, como el hígado, puede ser suficiente con intensificar las señales que inducen la regeneración para obtener un beneficio clínico. En cambio, cuando la capacidad regenerativa del órgano es limitada, hay que acudir a estrategias más complejas, como la terapia celular, o la implantación de prótesis, injertos o andamiajes.

#### 3.1. Terapia celular

Para favorecer la reparación de algunas lesiones se pueden aplicar de manera localizada células procedentes del propio paciente o de un donante. Se utilizan células de dos tipos:

a) **células madre adultas pluripotenciales**, que pueden crecer y diferenciarse en el lugar de la lesión. Se pretende que estas células se integren en el tejido que se está formando en sustitución del tejido dañado. Dado que en el proceso de reparación tisular participan también células de soporte y la correspondiente matriz extracelular, hay que preparar el nicho de la lesión para que se puedan injertar las nuevas células. El estroma tisular del receptor, es decir el suelo donde se asientan las células trasplantadas, debe proporcionar un entorno adecuado para que se integren y reparen

---

<sup>10</sup> J.P. Schmitz, J. O. Hollinger. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 205, 299-308, 1986.

<sup>11</sup> N.M. Haines, W.D. Lack, R.B. Seymour, M.J. Bosse. Defining the lower limit of a "critical bone defect" in open diaphyseal tibial fractures. *J. Orthop. Trauma.* 30, 158-163, 2016.

satisfactoriamente el tejido. A veces hay que co-administrar factores de crecimiento para que las células trasplantadas reciban señales tróficas. Si ya ha empezado la cicatrización, puede ser necesario destruir la cicatriz patológica para optimizar la supervivencia y la función de las células trasplantadas. En las lesiones profundas y en las lesiones crónicas, en las que las señales y los controles celulares propios de la homeostasis del tejido sano están distorsionados, se hace necesario crear un sustrato artificial utilizando un andamiaje.<sup>12</sup>

b) **células con capacidad**, natural o adquirida mediante modificaciones genéticas, **para producir y ceder citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento** que actúan sobre otras células propias del entorno de la lesión para activar el proceso de reparación. En este caso, las células que se administran tienen una supervivencia relativamente corta, de días o como mucho de semanas, y son las células del organismo las que, una vez activadas, deben continuar el proceso de reparación. Esta aproximación se ha mostrado particularmente útil en la regeneración de tejido vascular y cartílago. La terapia génica puede reforzar el proceso de curación restableciendo el equilibrio metabólico en el cartílago dañado. La manipulación genética de condrocitos y células progenitoras utilizando vectores no virales o virales se ha mostrado eficaz en estudios preclínicos para inducir condrogénesis y reparación mejorada del cartílago.<sup>13</sup>

En el ámbito clínico, la reparación de los tejidos a través de la administración de células exógenas sólo es posible mediante abordajes multidisciplinares contando con infraestructuras sanitarias complejas y después de haber superado controles muy estrictos de seguridad y eficacia. Esto determina que, en la actualidad, las posibilidades de aplicación de este tipo de terapias sean todavía limitadas. En cualquier caso, cuando el tamaño de la lesión supera el valor crítico, hay que combinar células con andamiajes.

---

<sup>12</sup> S.J. Forbes, N. Rosenthal. Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy. *Nature Med.* 20, 857-867, 2014.

<sup>13</sup> A. Rey-Rico, J. Frisch, J. Venkatesan, G. Schmitt, I. Rial-Hermida, P. Taboada, A. Concheiro, H. Madry, C. Alvarez-Lorenzo, M. Cucchiari. PEO-PPO-PEO carriers for rAAV-mediated transduction of human articular chondrocytes in vitro and in a human osteochondral defect model. *ACS Appl. Mat. Interf.* 8, 20600-20613, 2016.

### 3.2. Prótesis implantables

El uso de prótesis implantables construidas con materiales no biodegradables responde al objetivo de restablecer la función del tejido afectado sin regenerar su estructura. La presencia de la prótesis supone una barrera para la regeneración tisular por lo que si la implantación se hace en una persona joven que no ha completado su crecimiento, deberá reemplazarse en algún momento posterior por otra de mayor tamaño, lo que implicará una segunda intervención quirúrgica.

La función principal de las prótesis implantables no biodegradables, como las prótesis articulares, las placas o los tornillos, es proporcionar soporte mecánico y estructural, integrarse en el tejido hospedador y dar lugar a señales biológicas para promover la cicatrización. Los **implantes metálicos** se utilizan para aplicaciones en las que la resistencia mecánica es esencial, como es el caso de la reparación de huesos largos y del tratamiento de fracturas vertebrales.<sup>14</sup>

Los desarrollos en este campo se han centrado sobre todo en el acero inoxidable y las aleaciones de titanio. El acero inoxidable se utiliza desde hace más de 100 años como componente de implantes óseos, pero en los últimos tiempos, las aleaciones de titanio han ido ganado terreno porque son mucho más ligeras, resisten mejor los esfuerzos repetidos, su módulo de elasticidad es más parecido al del hueso, y además interaccionan de manera más intensa con el tejido óseo en formación. Dependiendo de cada aplicación concreta, los implantes metálicos deben satisfacer diferentes requisitos. Las placas y los tornillos de fijación de fracturas se suelen retirar del cuerpo después de la cicatrización, por lo que su osteointegración debe ser baja o moderada. En cambio, para reemplazo de articulaciones, es importante que la prótesis implantada se adhiera al tejido fuertemente y de la manera más rápida posible para que comience el proceso de cicatrización. La estabilidad de los implantes después de la cirugía es crítica para que la osteointegración tenga éxito. Oscilaciones de pocas micras cuando se aplica una carga pueden tener como consecuencia que la osteointegración sea mínima.<sup>15</sup>

---

<sup>14</sup> R. Agarwal, A. J. García. Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 94, 53–62, 2015.

<sup>15</sup> C.R. Bragdon, D. Burke, J.D. Lowenstein, D.O. O'Connor, B. Ramamurti, M. Jasty, W.H. Harris. Differences in stiffness of the interface between a cementless porous implant and cancellous bone in vivo in dogs due to varying amounts of implant motion. *J. Arthroplast.* 11, 945-951, 1996.

Para mejorar la **osteointegración**, se aplican estrategias como: a) dotar de rugosidad a la superficie de la prótesis para inducir la diferenciación celular; b) funcionalizar la superficie con grupos que promueven la adsorción de proteínas y la diferenciación celular; c) decorar la prótesis con ligandos para integrinas que median la adhesión de las células; o d) recubrir la prótesis capa-a-capa para encapsular factores de crecimiento y fármacos.

### 3.3. Injertos

Cuando el objetivo que se persigue es regenerar el tejido óseo afectado por una **lesión de tamaño superior al crítico**, hay que buscar una combinación muy precisa de elementos estructurales que sirvan de andamiaje con factores de crecimiento y células o biomoléculas que atraigan células. El material que reúne las propiedades ideales es el **injerto de hueso autólogo**, es decir hueso procedente del propio paciente. En el injerto autólogo se reúnen todas las características necesarias para la regeneración: (i) **osteconductividad**, actúa como andamiaje para promover la aposición ósea; (ii) **osteogenicidad**, contiene células osteoprogenitoras; y (iii) **osteoinductividad**, proporciona señales para inducir diferenciaciones osteogénicas de células madre locales.<sup>16</sup> Sin embargo, en la práctica esta aproximación tiene algunos inconvenientes importantes: la disponibilidad de hueso es limitada, la morbilidad en la zona de extracción del injerto es alta, hay que efectuar una cirugía adicional en la zona de extracción, y se produce una resorción ósea significativa durante la cicatrización.

Como alternativa a los injertos de hueso autólogo, se puede acudir a injertos óseos procedentes de donantes (**aloinjertos**), que están disponibles para la práctica clínica en forma de matriz ósea desmineralizada, chips esponjosos pulverizados, e injertos cortico-esponjosos y corticales, aunque en general, los aloinjertos son menos bioactivos que los injertos autólogos y pueden inducir rechazo. También se ha ensayado el empleo de injertos de huesos de animales (**xenoinjertos**).

---

<sup>16</sup> M. Kheirallah, H. Almeshal. Present strategies for critical bone defects regeneration. *Oral Health Case Rep.* 2, 3, 2016.

### 3.4. Andamiajes

La búsqueda de alternativas a los injertos biológicos ha llevado al desarrollo de **andamiajes no biológicos biodegradables**. Los andamiajes se diseñan de manera que presenten: i) propiedades mecánicas similares a las del tejido a reparar; ii) capacidad para incorporar factores de crecimiento y cederlos en el orden y a la velocidad requeridos; iii) superficies externa e interna aptas para la adhesión y el crecimiento celular; iv) porosidad e interconectividad suficientes para permitir la migración celular y la angiogénesis de manera que los vasos sanguíneos faciliten el aporte de oxígeno y el frente de formación de hueso pueda progresar;<sup>17</sup> y v) velocidad de biodegradación similar a la del crecimiento del nuevo tejido.

Algunos de estos requisitos pueden entrar en conflicto entre ellos. Por ejemplo, la resistencia mecánica y la capacidad de control de la cesión de factores de crecimiento requieren estructuras compactas, mientras que la movilidad y la proliferación celular demandan tamaños de poro relativamente grandes. Por lo tanto, habrá que priorizar los criterios de diseño del andamiaje para poder llegar a una solución de compromiso.<sup>18</sup> Para construir los andamiajes se utilizan polímeros, materiales cerámicos y materiales compuestos, que se pueden procesar en estructuras tridimensionales.

#### *-Andamiajes poliméricos*

Se pueden utilizar polímeros naturales o sintéticos. Los polímeros naturales se vienen usando desde hace años en ingeniería de tejidos porque son biocompatibles y promueven la adhesión y el crecimiento celular, pero tienen el inconveniente de que resultan difíciles de estandarizar y de procesar y la resistencia mecánica de los andamiajes es baja. Para superar estas limitaciones, se ha dedicado un considerable esfuerzo al diseño de polímeros sintéticos biodegradables, a los que se pueden anclar biomoléculas para favorecer la interacción con las células y promover su adhesión, crecimiento y diferenciación.

---

<sup>17</sup> D.W. Hutmacher. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 21, 2529–2543, 2000.

<sup>18</sup> Z. Sheikh, S. Najeeb, Z. Khurshid, V. Verma, H. Rashid, M. Glogauer. Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications. *Materials* 8, 5744-5794, 2015.

- *Materiales biocerámicos*

Las biocerámicas constituidas por fosfatos de calcio se usan mucho en regeneración ósea por su biocompatibilidad, su bioactividad y su resistencia a la corrosión. Los fosfatos dicálcicos biodegradables, como la monetita y la brushita, son bien tolerados por los huesos y los tejidos blandos y no causan inflamación a largo plazo. Se pueden reabsorber previa desintegración/fragmentación en pequeñas partículas que son fagocitadas por los macrófagos, los fibroblastos y los osteoblastos. La degradación de los fosfatos dicálcicos da lugar a un rápido incremento de la porosidad en los andamiajes, que puede comprometer sus propiedades mecánicas. Los cementos de brushita se degradan inicialmente a una velocidad mayor que la de formación de hueso, con lo que se crea un pequeño espacio entre el cemento y el hueso en formación.<sup>19</sup> A medida que el hueso crece en la matriz del andamiaje, las propiedades mecánicas se van recuperando. El andamiaje remanente se va transformando en apatita, que es menos soluble, y la reabsorción se hace mucho más lenta, lo que dificulta que se complete el proceso de regeneración.

- *Materiales compuestos (Composites)*

La combinación de polímeros y biocerámicas para obtener materiales compuestos permite superar las limitaciones de cada componente por separado, dando lugar a estructuras que imitan mejor la composición y las propiedades mecánicas y de crecimiento celular del hueso a reparar.<sup>20</sup>

---

<sup>19</sup> K. Ohura, M. Bohner, P. Hardouin, J. Lemaitre, G. Pasquier, B. Flautre. Resorption of, and bone formation from, new beta-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: An in vivo study. *J. Biomed. Mater. Res.* 30, 193–200, 1996.

<sup>20</sup> G. Turnbull, J. Clarke, F. Picard, P. Riches, L. Jia, F. Han, B. Li, W. Shu. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioactive Mater.* 2018, en prensa, doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.10.001.

## 4. PREPARACIÓN DE ANDAMIAJES

Se han desarrollado diversas técnicas para procesar materiales biodegradables y obtener andamiajes tridimensionales que mantienen suficiente integridad estructural durante el proceso de regeneración y remodelación. La arquitectura interna es crítica para que el andamiaje pueda actuar como soporte del tejido en formación desde el momento de la implantación hasta que se completa su remodelación.

### 4.1. Técnicas convencionales

Las técnicas de procesado convencional permiten obtener bloques, geles, espumas y membranas a partir de polímeros y biocerámicas.<sup>21,22</sup>

-El procedimiento de *separación de fases* consiste en enfriar una disolución de un polímero en un medio orgánico para que se separen dos fases sólidas, y eliminar el disolvente para formar una estructura porosa. La porosidad se regula ajustando la concentración de polímero y la velocidad de enfriamiento. El proceso transcurre a baja temperatura, por lo que resulta adecuado para preparar andamiajes con componentes bioactivos termolábiles.

-En el *moldeado por eliminación de disolvente y lixiviación*, a la disolución de polímero en un medio orgánico se incorporan partículas de una sal o de un compuesto orgánico insoluble. Se elimina por evaporación o por liofilización el disolvente, y a continuación las partículas por lixiviado en agua.

-El *moldeado por eliminación de disolvente y espumado por evaporación de un porógeno* es un procedimiento similar al anterior, salvo que una vez evaporado el disolvente, la matriz sólida se calienta a presión reducida para eliminar el porógeno y formar una membrana porosa.

---

<sup>21</sup> N. Zhu, X. Chen. Biofabrication of Tissue Scaffolds. En: *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*, InTech 2013.

<sup>22</sup> S.F. Yang, Z.H. Du, K.F. Leong, C.K. Chua. Review: the design of scaffolds for use in tissue engineering. Part 1. Traditional factors. *Tissue Eng.* 7, 679–690, 2001.



-El *moldeado por ablandamiento* consiste en calentar, en un molde, una mezcla de un polímero con un material porogénico por encima de la temperatura de transición vítrea del polímero mientras se aplica presión. La mezcla se enfría y se elimina el porógeno utilizando un disolvente adecuado para obtener una matriz porosa. El diámetro y la proporción de las partículas del porógeno determinan el tamaño de los poros y la porosidad total del andamiaje.

-En la *liofilización*, los componentes se dispersan en medio acuoso y, a continuación, el sistema se congela. El tamaño de los cristales de hielo, que depende de la temperatura y la velocidad de congelación, define el tamaño de los poros una vez que se completa la sublimación. Este procedimiento permite obtener en una sola etapa andamiajes con poros interconectados.

La búsqueda de procedimientos que eviten la utilización de disolventes orgánicos y porógenos, que permitan un control más preciso del tamaño e interconectividad de los poros, y que sean compatibles con la incorporación de sustancias activas sin pérdidas durante el procesado ha llevado al desarrollo de nuevas aproximaciones, como el espumado con fluidos supercríticos, el electrohilado y la manufactura aditiva.

#### 4.2. *Espumado con CO<sub>2</sub> supercrítico*

Los fluidos supercríticos o cuasi-críticos ofrecen interesantes posibilidades en el diseño de andamiajes de composición, morfología, porosidad y arquitectura interior muy diversas.

El CO<sub>2</sub> en estado supercrítico o comprimido puede disolver regiones amorfas y semicristalinas de los polímeros, actuando como un agente plastificante y porogénico muy efectivo en condiciones de presión fácilmente alcanzables, a una temperatura próxima a 37°C, y en ausencia de disolventes orgánicos. Durante la despresurización y remoción del CO<sub>2</sub> se forman macro, micro y nano-poros. La porosidad total depende de la cantidad de CO<sub>2</sub> absorbido en el polímero; una variable que se puede ajustar controlando la presión, la temperatura y el tiempo de exposición. La interconectividad

de los poros depende de la velocidad de despresurización y enfriamiento. El CO<sub>2</sub> no es inflamable y se puede recuperar del ambiente para su reutilización, lo que hace que esta tecnología además de evitar la presencia de residuos tóxicos en los andamiajes sea particularmente respetuosa con el medioambiente.<sup>23</sup>

Por ejemplo, se han preparado por esta técnica andamiajes compuestos por mezclas de polímeros biodegradables y factores de crecimiento o biocerámicas que presentan una elevada micro- y macro-porosidad. Durante el procesado se mantiene la integridad de los factores de crecimientos y de la biocerámica, lo que hace que los andamiajes presenten una elevada capacidad de adhesión de células preosteoblásticas y que se induzca la mineralización ósea en defecto crítico.<sup>24</sup>

#### 4.3. Electrohilado

El electrohilado conduce a la formación de mallas no tejidas con poros de distintos tamaños. Se basa en la eyección, a través de una boquilla de pequeño diámetro, de una disolución de polímero mediante la aplicación de un campo eléctrico. Durante el flujo, se evapora el disolvente en contacto con el aire y se forman fibras que se depositan formando una malla.<sup>25</sup>

Las células se adhieren y crecen sobre la superficie de la malla, que por su elevada porosidad facilita la difusión de nutrientes. Es posible obtener andamiajes con una disposición espacial de las fibras que mimetice la estructura de los tejidos donde van a ser implantados. Para estabilizar la arquitectura de las mallas, se puede promover la formación de uniones entre las fibras.

---

<sup>23</sup> C.A. García-González, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo. Processing of materials for regenerative medicine using supercritical fluid technology. *Bioconjugate Chem.* 26, 1159–1171, 2015.

<sup>24</sup> L. Diaz-Gomez, C. A. García-González, J. Wang, F. Yang, S. Aznar-Cervantes, J.L. Cenis, R. Reyes, A. Delgado, C. Evora, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo. Biodegradable PCL/fibroin/hydroxyapatite porous scaffolds prepared by supercritical foaming for bone regeneration. *Int. J. Pharm.* 527, 115-125, 2017.

<sup>25</sup> A. Costoya, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo. Electrospun fibers of cyclodextrins and poly(cyclodextrins). *Molecules* 22, 230, 2017.

El electrohilado permite incorporar a los andamiajes fármacos o moléculas bioactivas, como factores de crecimiento, bien en el interior o en la superficie de las fibras. En función del método de incorporación se pueden obtener perfiles de cesión diferentes.<sup>26</sup>

#### 4.4. *Manufactura aditiva*

Los avances tecnológicos más recientes permiten preparar andamiajes adaptados a las necesidades específicas de cada paciente, es decir **personalizados**, con geometrías sofisticadas que se ajustan a las irregularidades de cada defecto y, además, mimetizan la complejidad de los tejidos por medio de una distribución precisa de materiales orgánicos e inorgánicos, citoquinas y factores de crecimiento y, en algunos casos, también de células. Frente a los diseños estandarizados para la producción en masa, con las nuevas aproximaciones se pretende tener en cuenta la individualidad de cada lesión y el estado de salud de cada paciente del que va a depender su capacidad para desencadenar el crecimiento y la diferenciación celular.<sup>27</sup>

Para crear andamiajes con propiedades en la macro- y la micro-escala que faciliten una actividad celular óptima, se requiere un control muy minucioso de los procesos de fabricación. Las técnicas de **manufactura aditiva** y **prototipado rápido** hacen posible este control. La producción clásica se basa en procesos substractivos, en los que se modela el andamiaje a partir de un bloque de material aplicando técnicas de corte, pulido o disolución. En cambio, en la manufactura aditiva se construye el objeto capa a capa, utilizando sólo el material requerido sin pérdida de componentes; un aspecto muy relevante en el ámbito de la medicina regenerativa, por el elevado coste de algunas materias primas como los factores de crecimiento. Los procesos de manufactura aditiva son más lentos que los que se aplican en la fabricación masiva. El término **prototipado** se utiliza para resaltar que son aptos, sobre todo, para crear

---

<sup>26</sup> L. Díaz-Gómez, F. Montini Ballarin, G.A. Abraham, A. Concheiro, C. Alvarez-Lorenzo. Random and aligned PLLA:PRGF electrospun scaffolds for regenerative medicine. *J. Appl. Polym. Sci.* 132, 41372, 2015.

<sup>27</sup> S.V. Murphy, A. Atala. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat. Biotechnol.* 32, 773–785, 2014.

prototipos personalizados. El calificativo *rápido* hace referencia a la facilidad para hacer copias fieles de objetos individualizados utilizando una aplicación informática.<sup>28</sup>

Bajo la denominación de manufactura aditiva, se agrupan un número creciente de técnicas que permiten construir estructuras complejas capa a capa de acuerdo con un diseño por ordenador. Todas ellas se caracterizan por utilizar sistemas de movimiento multieje en las tres dimensiones del espacio (por lo que algunas se conocen también como técnicas de impresión 3D) y generan objetos tridimensionales acoplando secuencias de capas de material. Un protocolo de trabajo típico comprende las siguientes etapas: registro de la imagen de la lesión, diseño tridimensional del andamiaje, selección de los materiales, producción del andamiaje y preparación para la implantación.<sup>29</sup>

Se define la estructura del andamiaje a partir de imágenes de la lesión, por ejemplo un TAC, o se utiliza un programa de diseño por ordenador para generar el objeto con la estructura 3D del tejido a sustituir. A continuación, la estructura se exporta a un formato de archivo con toda la información necesaria sobre el volumen y la textura superficial de las capas en el espacio 3D. Otro programa, conocido como “slicer” (algo así como rebanador) se usa para transformar los datos 3D en capas que puedan ser construidas por el equipo de manufactura aditiva. Este programas permite configurar el tipo de relleno y la velocidad de formación de cada capa, y el tiempo que debe transcurrir entre la formación de capas sucesivas. También se puede incorporar algún tipo de postprocesado para endurecer progresivamente las capas.

El objeto 3D se va construyendo como suma de capas 2D. Dependiendo de la técnica, las capas se generan por polimerización, aglutinación, sinterización, fusión o extrusión.<sup>30</sup>

*La Estereolitografía* utiliza luz láser para fotopolimerizar capas de resina líquida. El material fotopolimerizable se encuentra en un recipiente sobre una plataforma móvil que al descender expone más resina al haz de luz sobre la capa anteriormente formada.

---

<sup>28</sup> P.D. Dalton, C. Vaquette, B.L. Farrugia, T.R. Dargaville, T.D. Brown, D.W. Hutmacher. Electrospinning and additive manufacturing: converging technologies. *Biomaterials Sci.* 1, 171-185, 2013.

<sup>29</sup> J. Kietzmann, L. Pitt, P. Berthon. Disruptions, decisions, and destinations: Enter the age of 3-D printing and additive manufacturing. *Business Horizons* 58, 209-215, 2015.

<sup>30</sup> N.A. Sears, D.R. Seshadri, P.S. Dhavalikar, E. Cosgriff-Hernandez. A review of three-dimensional printing in tissue engineering. *Tissue Eng. B* 22, 298-310, 2016.

La estructura de cada capa viene determinada por la zona donde incide el láser. Por este procedimiento, se han construido andamiajes 3D utilizando polímeros y nanopartículas de hidroxiapatita que han mostrado una notable capacidad para promover el desarrollo de hueso nuevo.<sup>31</sup> De manera similar, se han preparado andamiajes que imitan el hueso trabecular utilizando una suspensión de una cerámica fotocurable. La resolución de las capas depende del diámetro del haz de luz láser que, en los equipos más avanzados, es de 70  $\mu\text{m}$ .

La estereolitografía se puede aplicar a una gran variedad de sustancias fotopolimerizables y permite construir capas de unas 20  $\mu\text{m}$  de espesor, lo que hace posible un control muy preciso de la microarquitectura del objeto. Su principal inconveniente es la toxicidad potencial de los macromonómeros que no hayan reaccionado al ser expuestos al láser.

En la técnica de *Impresión de polvo* se parte de gránulos de polímeros, materiales cerámicos o metales. En la sinterización selectiva por láser los gránulos se exponen a luz láser para que se produzca un incremento local de temperatura que conduzca a la fusión parcial del material en la zona de contacto entre los gránulos siguiendo la dirección del láser. Los andamiajes 3D se generan recubriendo la capa sinterizada con otra capa de gránulos, irradiando de nuevo y repitiendo la operación para formar capas sucesivas. Finalmente, se retiran los gránulos no unidos. Por ejemplo, se ha desarrollado un andamio osteocondral biomimético con gradiente de composición y de arquitectura interna a partir de capas de poli( $\epsilon$ -caprolactona) y nanohidroxiapatita, capaz de regenerar la capa de cartílago articular y hueso subcondral en la zona del defecto.<sup>32</sup> La resolución de las capas del andamio depende del tamaño de los gránulos de partida. En general, los andamiajes tienen una elevada resistencia mecánica, y son muy versátiles en cuanto a diseño, forma, e interconexión de poros.

En el *Modelado por deposición fundida*, el material de partida es un filamento de un polímero o de un material compuesto que alimenta una o varias boquillas que se encuentran a una temperatura superior a la temperatura de fusión. La boquilla se

---

<sup>31</sup> O. Guillaume, M.A. Geven, C.M. Sprecher, V.A. Stadelmann, D.W. Grijpma, T.T. Tang, L. Qind, Y. Lai, M. Alini, J.D. de Bruijn, H. Yuan, R.G. Richards, D. Eglin. Surface-enrichment with hydroxyapatite nanoparticles in stereolithography-fabricated composite polymer scaffolds promotes bone repair. *Acta Biomater.* 54, 386–398, 2017.

<sup>32</sup> Y. Du, H. Liu, Q. Yang, S. Wang, J. Wang, J. Ma, I. Noh, A.G. Mikos, S. Zhang. Selective laser sintering scaffold with hierarchical architecture and gradient composition for osteochondral repair in rabbits. *Biomaterials* 137, 37-48, 2017.

desplaza de forma muy precisa en las tres direcciones del espacio, al tiempo que extruye el material fundido en forma de un fino hilo que se solidifica en una superficie. Por esta técnica se pueden obtener entramados con patrones internos muy variados y con estructuras que reproducen con gran fidelidad el objeto diseñado. Se han preparado, por ejemplo, andamiajes formados por poli( $\epsilon$ -caprolactona) y poloxamina con dexametasona incorporada que regulan la velocidad de cesión de este fármaco osteoinductivo y potencian la diferenciación de células madre a osteoblastos.<sup>33</sup>

El modelado por extrusión de material, fundido o en forma de gel, es un técnica de impresión 3D útil para generar andamiajes tanto para tejidos duros como blandos, siempre que los materiales cuenten con unas propiedades reológicas que faciliten la extrusión, y una vez extruidos deben recuperar su consistencia para que los objetos mantengan la morfología programada. Los andamiajes así obtenidos están constituidos en su interior por filamentos entrecruzados formando polígonos, en los que se puede regular los lados y los ángulos.<sup>34</sup> Debido a esta estructura filamentosa, los andamiajes pueden ser anisotrópicos. Esto puede originar problemas de exfoliación, aunque también puede representar una ventaja cuando se necesita que las células crezcan alineadas, como ocurre en regeneración de ligamentos y tendones. Para que las tensiones mecánicas se distribuyan uniformemente se aplica el concepto de *tenseguridad* o integridad tensional. La *tenseguridad* se consigue estableciendo conexiones entre distintos puntos del marco del andamiaje por medio de triángulos, pentágonos o hexágonos, de manera que puedan soportar tensión y compresión.

- *Bioimpresión*<sup>30;35</sup>

La fabricación aditiva de andamiajes con células vivas incorporadas se conoce como **bioimpresión**. Las técnicas de bioimpresión deben dar respuesta al reto que supone mantener la viabilidad celular durante todas las etapas del procesado, sometiendo las células al menor estrés posible. Los materiales de partida que incorporan las células se denominan **biotintas**. La mayor parte de las técnicas de

---

<sup>33</sup> P.F. Costa, A.M. Puga, L. Díaz-Gomez, A. Concheiro, D.H. Busch, C. Alvarez-Lorenzo. Additive manufacturing of scaffolds with dexamethasone controlled release for enhanced bone regeneration. *Int. J. Pharm.* 496, 541–550, 2015.

<sup>34</sup> C. K. Chua, K. F. Leong, C. M. Cheah, S. W. Chua. Development of a tissue engineering scaffold structure library for rapid prototyping. Part 1: Investigation and Classification. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 21, 291–301, 2003.

<sup>35</sup> N. Hong, G.H. Yang, J.H. Lee, G.H. Kim. 3D bioprinting and its in vivo applications. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 106B, 444–459, 2018.

bioimpresión se basan en la extrusión o micro-extrusión de geles, en la impresión asistida por láser y en la impresión por inyección de tinta.

El procedimiento más peculiar es la **bioimpresión por inyección de tinta**, que permite depositar células y biomateriales para crear andamiajes en tres dimensiones imitando la impresión 2D convencional sobre papel. Las biotintas se introducen en cartuchos que cuentan en su base con una serie de orificios, y para expulsar una gota de biotinta se aplica un pulso de corriente o una presión mecánica. El incremento de temperatura o de presión, aunque sea sólo por un tiempo muy corto, y la elevada velocidad de impresión pueden tener efectos negativos sobre la supervivencia celular. Una dificultad tecnológica importante de la impresión por inyección radica en que la biotinta debe mantenerse en estado líquido para que se produzca la formación de las gotas, lo que determina que la concentración de células tenga que ser baja para evitar que sedimenten. Por otra parte, es necesario que la gota de biotinta depositada se solidifique muy rápidamente con la geometría requerida. Para conseguir este objetivo, se pueden reticular los polímeros.

## 5. CONCLUSIÓN

Aunque la manufactura aditiva es una tecnología reciente, el escaneo y diseño en tres dimensiones y los procedimientos de fabricación ya han alcanzado un nivel de desarrollo que permite la creación de prototipos y la producción de estructuras complejas. Esto debe allanar el camino hacia andamiajes totalmente personalizados, que combinen el diseño de la imagen y la estratificación interna de la estructura 3D con resolución en la nanoescala, utilizando sólo las cantidades de componentes necesarias para constituir el andamiaje.

Desde un punto de vista tecnológico, la fabricación aditiva demanda nuevos materiales citocompatibles que faciliten la adhesión de células del hospedador, pero no de microorganismos. Se requiere un esfuerzo multidisciplinar para establecer criterios de diseño y ampliar la lista de materiales procesables que puedan comunicar a los andamiajes prestaciones avanzadas.

Desde una perspectiva regulatoria, los andamiajes 3D son productos sanitarios de implantación y, si incorporan células u otros componentes biológicos o fármacos, tienen que satisfacer los requisitos de eficacia y seguridad que se exigen a los productos de combinación. Un aspecto crítico es la validación de los procesos de producción, incluyendo el diseño tridimensional ya que la geometría interna del andamiaje debe asegurar que no se generen zonas en las que se pueda producir muerte celular y necrosis del tejido en formación.

La manufactura aditiva está evolucionando muy rápidamente y sus aplicaciones en biomedicina son cada vez más diversas y más sofisticadas. El empleo de prototipos 3D como modelos quirúrgicos es ya una realidad, y es previsible que en un futuro no muy lejano las mejoras en velocidad y resolución hagan posible la impresión de andamiajes sobre las propias lesiones, reduciendo el tiempo de recuperación del tejido afectado.

Muchas gracias.