



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EL COMPORTAMIENTO INTERCELULAR DE TRES
BIOMATERIALES EN DEFECTOS DE TAMAÑO CRÍTICO
EN CALVARIAS DE RATAS WISTAR.

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

SIMÓN ALEJANDRO CRUZ CABRERA

TUTORA: Dra. LÍA ALIOTH HOZ RODRÍGUEZ

ASESOR: Dr. ENRIQUE ROMO ARÉVALO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi madre Graciela, por guiarme a lo largo de mi vida en todo momento, por inculcarme el valor del trabajo, por apoyarme en cada decisión , sin ti nada de esto sería posible, ningún hijo ha tenido una mejor madre, te amo con todo mi ser.

A mi hermana Dennis, por ser la mejor hermana, por mantenernos unidos, por soportarme todos los días, te amo, siempre estaré para ti.

A Teresa, eres una mujer maravillosa que siempre me dio todo sin esperar nada, gracias por cuidarme tanto y preocuparte, nunca podré pagarte todo lo que has hecho por mí, te amo mamá Tere.

Andrea, eres una mujer increíble, gracias por amarme tanto y apoyarme tanto, por estar siempre dispuesta a darlo todo por nosotros, agradezco cada día que hemos pasado juntos por que han sido los mejores, eres la mujer de mi vida, siempre te voy a llevar en mi mente y en mi corazón, te amo infinitamente princesa. **“you'll never walk alone”**.

A mis abuelos Juanita y Adrian, por amarme y cuidarme tanto, a mis primos Diana, Iván y José Luis, han sido como mis hermanos y lo amo como tales, a toda mi familia por sus muestras de amor, cariño y apoyo, les estaré por siempre agradecido.

Para Antonio Rojas Ortiz, gracias por tu apoyo incondicional y desinteresado, por tus consejos, apoyo y cariño, te quiero mucho y siempre te estaré agradecido.

A la familia de mi novia, Salvador Flores, Celia Alvarado, Chava y Lalo, gracias por su confianza, por abrirme las puertas de su hogar y brindarme su calidez y apoyo.

Para mi amigo Octavio Mena, por tu amistad sincera, tú lealtad y tu cariño, eres como un hermano para mí, para tu familia también por sus muestras de cariño hacia mí. A mi amigo Erick Hernández, gracias por estar para mí siempre y por mantener nuestra amistad. A mi amigo Arturo Rodríguez por apoyarme en cada proyecto de mi vida y por tu amistad sincera. A mí amigo Ángel, toro, gracias por tu amistad y cariño. Para mis amigas Monse, Pamela, Haydee, Wendy, son las mejores amigas del mundo, gracias por ayudarme tanto a lo largo de la carrera, sin ustedes no habría tenido la motivación necesaria.

Para mi tutora Dra. Lía, gracias por su ayuda, su guía, su apoyo y por enseñarme tanto, no habría podido tener una mejor tutora. Al Dr. Enrique Romo, gracias por su paciencia, por su disposición y por todo su apoyo, a la Dra. Sonia por su gran apoyo y por brindarme sus conocimientos, gracias a ustedes me llevo la mejor impresión de mi universidad. Al departamento de biología periodontal, por su calidez y por permitirme el desarrollo de este proyecto.

A la UNAM, por permitirme desarrollarme personal y académicamente, por cambiar mi vida y por permitirme dedicarme a lo que más me gusta, eternamente agradecido con la mejor universidad de México.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
CAPÍTULO I: TEJIDO ÓSEO	8
1.1. Concepto.....	8
1.2. Defectos óseos.....	10
1.3. Defectos de tamaño crítico.....	12
1.4. Andamios.....	13
1.4.1. Antecedentes.....	14
CAPÍTULO II: BIOMATERIALES	16
2.1. Definición.....	16
2.2. Clasificación de biomateriales.....	16
2.2.1. Materiales metálicos.....	16
2.2.2. Materiales cerámicos.....	17
2.2.3. Materiales poliméricos.....	18
2.2.4. Colágena tipo I.....	19
2.2.5. Alginato.....	20
2.2.6. Spongostan.....	22
CAPÍTULO III: INTERACCIONES CELULARES	24
3.1. Marginación y rodamiento.....	25
3.2. Adhesión y transmigración.....	25
3.3. Quimiotaxis.....	25
3.4. Biocompatibilidad.....	26
3.5. Biomecánica.....	26
3.6. Biodegradación.....	27
JUSTIFICACIÓN	28

HIPÓTESIS	29
OBJETIVOS	29
Objetivo general.....	29
Objetivos específicos.....	29
METODOLOGÍA	30
Protocolo para la extracción de colágena.....	30
Protocolo para la realización de láminas de colágena.....	31
Instrumental.....	32
Procedimiento quirúrgico.....	33
Eutanasia.....	37
RESULTADOS	38
Análisis histológicos.....	38
DISCUSIÓN	49
CONCLUSIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

INTRODUCCIÓN

La regeneración ósea es un procedimiento importante en la práctica clínica, usado para tratar casos de defectos derivados de traumas, defectos congénitos, enfermedades bacterianas o extirpación tumoral, Si bien pueden aplicarse numerosas estrategias clínicas actuales para abordar estos defectos, pero sigue siendo un desafío clínico para tratar los defectos de tamaño crítico.

Los defectos de tamaño crítico son defectos ortotópicos que no cicatrizan sin ayuda de intervención; por definición clásica, es el defecto de tejido de menor tamaño que no cicatrizará y/o regenerará completamente durante la vida natural de un animal.

El daño total o parcial de tejido y la pérdida de la función representa el desafío más grande en cuanto a la rehabilitación ósea se refiere, estos desafíos nos han llevado al abordaje mediante trasplantes o tejidos alogénicos para el desarrollo de nuevas terapias que nos permitan una última regeneración así como llevarnos a la recuperación de la función.

La experimentación empleando animales de laboratorio es de utilidad para determinar los riesgos y beneficios de productos farmacéuticos, dispositivos y estrategias médicas. A pesar de las preocupaciones éticas y los esfuerzos para desarrollar alternativas a la experimentación con animales, un componente crítico en los campos de la traducción y el desarrollo de la tecnología médica son modelos animales estandarizados.

En la actualidad se han usado injertos para promover la cicatrización en procedimientos de reconstrucción craneofacial y técnicas por medio del uso de andamios biológicos.

Un andamio se puede definir como la combinación de elementos para la conformación de materiales que se puedan usar como potenciales sustitutivos

óseos. Dentro de las características que deben cubrir podemos destacar un correcto soporte, resistencia y el factor más importante biocompatibilidad, además de la seguridad de ser un material estéril para reducir el riesgo de contaminación o infección.

Dentro de la gama de biomateriales para el uso de andamios se encuentran los polímeros de origen natural como son colágena, elastina y fibrina, estos materiales han sido estudiados y utilizados como materiales para injertos óseos con aplicaciones ortopédicas y odontológicas.

El manejo terapéutico y rehabilitación de los defectos óseos representa un desafío debido a la controversia en cuanto que biomaterial es el más adecuado para ser usado como andamio, por ello es de interés conocer las diferencias a nivel histológico para conocer los beneficios y posibles desventajas que se puedan presentar durante el uso de los diferentes biomateriales.

CAPÍTULO I: TEJIDO ÓSEO

1.1. Concepto

El tejido óseo es el resultado del trabajo en conjunto de diferentes tejidos, como son: cartílago, tejido conectivo denso, epitelio, tejido adiposo y tejido nervioso; es por ello que se considera un órgano¹. Siendo así un tejido complejo y dinámico que experimenta un proceso continuo de remodelación (construcción de tejido óseo nuevo y destrucción simultánea del viejo) y el conjunto de huesos y cartílagos que constituye el sistema esquelético¹.

El tejido óseo constituye aproximadamente el 18% del peso corporal y sus funciones son: dar sostén a los tejidos blandos e inserción para la mayoría de los tendones, protege de lesiones a los órganos internos, permite la asistencia al movimiento en la contracción de músculos esqueléticos, libera hacia la sangre diversos minerales necesarios para mantener la homeostasis, lleva a cabo la producción de células sanguíneas a partir de la médula ósea (hemopoyesis) y ayuda al almacenamiento de triglicéridos en la médula ósea amarilla¹.

El tejido óseo presenta cuatro tipos celulares principales: las células osteogénicas que son células madre no especializadas derivadas de mesénquima, son las únicas que llevan a cabo la división celular para la producción de osteoblastos y las podemos encontrar a lo largo del endostio (porción más interna del periostio); los osteoblastos son células formadoras de hueso que sintetizan y secretan fibras colágenas y otros componentes orgánicos necesarios para la construcción de matriz osteoide y dan inicio a la calcificación; los osteocitos son células óseas maduras que mantienen el metabolismo diario a partir del intercambio de nutrientes y productos metabólicos con la sangre; y por último están los osteoclastos las cuales son células grandes derivadas de la fusión de varios monocitos (un tipo de glóbulo blanco) agrupados en el endostio para llevar a cabo la resorción de la matriz

ostoide, siendo la parte del desarrollo normal del crecimiento, mantenimiento y reparación del hueso¹.



Figura 1. Complejo de células óseas ².

Nombramos osificación u osteogénesis al proceso por el cual se forma hueso y existen dos mecanismos de la formación de tejido óseo, el cual implica el reemplazo de tejido conectivo preexistente por hueso. El primer tipo es la osificación intramembranosa, donde el hueso se forma directamente en el interior del mesénquima y se coloca en capas que parecen membranas, siendo la más simple de ambos procesos; huesos planos del cráneo y de mandíbula se constituyen de esta manera y el segundo tipo es la osificación endocondral, donde el tejido óseo se forma dentro del cartílago hialino que se desarrolla a partir del mesénquima (reemplazo de cartílago por hueso), este proceso se puede apreciar de mejor manera en huesos largos.

La remodelación ósea es el reemplazo permanente del hueso viejo por el tejido nuevo, comprendiendo a la resorción ósea como la remoción de minerales y fibras colágenas del hueso por osteoclastos (destrucción de matriz osteoide) y el depósito óseo siendo la incorporación de minerales y fibras colágenas al hueso por los osteoblastos (conduce a la formación de matriz). Constantemente se remodela cerca del 5% de la masa total de hueso del organismo, el 4% por año en la renovación de hueso compacto y cerca del 20% anual en el hueso esponjoso.

El proceso de remodelación también remueve hueso lesionado y lo reemplaza por tejido nuevo y es estimulada por diferentes factores como el ejercicio, sedentarismo y cambios en la dieta; teniendo varios beneficios adicionales, ya que la solidez del hueso está relacionado con el grado de tensión que soporta, es decir, si se somete ante cargas pesadas en su formación reciente tendrá un espesor mayor y será más sólido que el viejo; además es posible alterar la forma de un hueso para brindar un soporte adecuado sobre la base de tensión experimentado durante el proceso de remodelación¹.

1.2. Defectos óseos

El daño total o parcial de tejido y la pérdida de función se encuentran entre los problemas más graves y costosos de la salud humana, aunque estos problemas se han abordado mediante trasplantes o tejidos alogénicos (procedimiento mediante el cual una persona recibe células madre provenientes de un donante genéticamente similar, pero no idéntico), es una opción limitada debido a los donantes. Es por ello que investigadores buscan la posibilidad de utilizar células o diversos materiales de diversa naturaleza para la reconstrucción de tejidos. Y buscar diferentes tipos de terapias que ayuden a la recuperación de lesiones de tejido óseo causados por trauma, osteonecrosis, tumores y enfermedades congénitas y degenerativas³.

Así en la actualidad se han usado injertos para promover la cicatrización de la fractura (donde los extremos del hueso no cicatrizan juntos), en procedimientos de reconstrucción craneofacial y técnicas de fusión en cirugía espinal. Desarrollando agentes biológicos para inducir el crecimiento óseo y sustituir injertos de tejido usando diferentes tipos de células, unidos a una variedad de matrices o andamios⁴.

Los defectos óseos postraumáticos ocasionan un pérdida aguda de hueso, ocurriendo de manera subaguda durante el desbridamiento quirúrgico de una

fractura expuesta conminuta o en casos crónicos de pseudoartrosis atrófica u osteomielitis difusa; clínicamente se pueden presentar en pseudoartrosis u osteosíntesis infectadas de fémur y tibia. Estos defectos óseos alteran drásticamente la calidad de vida del paciente y puede producir serias secuelas de acortamiento disfuncional de la extremidad, deformidad angular, rigidez articular y trastorno reversible de la marcha, poniendo en riesgo de amputación. Se clasifican en tres tipos: tipo 1, cuando la pérdida ósea afecta menos del 50% del diámetro del hueso; tipo 2, compromete más del 50% pero aún está en contacto en uno o más puntos de la cortical y el tipo 3, donde el defecto no posee continuidad en ningún punto de la cortical⁵.

Los defectos óseos por osteonecrosis nos indican la muerte de los constituyentes del hueso (ostocitos) y la médula ósea (hematopoyética y grasa) por causa isquémica. Este hueso desprovisto de circulación, sufre una isquemia secundaria que produce la lesión o muerte del tejido, que tendrá matices diferentes dependiendo el nivel de la afectación (diafisario, epifisario o metafisario), así como el nivel de hueso en adultos o durante el crecimiento (siendo el más importante). La isquemia puede ser transitoria o mantenida produciendo necrosis, siendo reparable o no, dependiendo de la edad del paciente, ya que a menor edad el defecto necrótico tendrá mayor deformación y secuela. Por ello es de gran importancia saber cuáles son las primeras fisis en cerrar del cuerpo (distal del fémur y proximal de la tibia) y las ultimas (proximal del húmero y distal del radio)⁶.

Los defectos óseos por tumores se pueden observar debido al aumento de volumen por el crecimiento del tumor, otras veces debido a la deformación por la presencia de fractura patológica, que en algunas ocasiones puede ser el primer síntoma. Los tumores óseos pueden localizarse en todos los huesos, aunque existen localizaciones de elección, por ejemplo, para el condroma solitario, las falanges y metacarpianos. Es importante tener en cuenta la edad, localización y signos de benignidad y malignidad; se entiende por benigno

cuando el tumor está constituido por células de tamaño, tipo y características de tejido normal del que se origina, son circunscritas, encapsuladas y no invaden estructuras vecinas, el crecimiento es lento, tiene poca tendencia a sufrir hemorragia, no presenta cambios en la piel y no comprometen la salud y vida del individuo; se entiende por malignidad cuando las células que lo componen son diferentes a las del tejido que la originan (células atípicas), no son circunscritas, tienen capsula que los aísla y son invasivos, crecen rápido, son muy vasculares y tienden a sufrir hemorragias, causando alteraciones en la piel, son dolorosos y comprometen la salud y vida del individuo, ya que pueden reproducirse a distancia ocasionando una metástasis⁷.

1.3. Defectos de tamaño crítico

En el tejido óseo el concepto de defecto de tamaño crítico se refiere a la lesión ortopédica que no es capaz de sanar por sí misma durante la vida del animal, que requerirá intervención para poder recuperarse. Como tales, los materiales o las estrategias, que causan la regeneración completa del hueso en estos defectos, se consideran puentear los defectos de no-uniión, o capaces de generar el hueso en un sitio y el tiempo en que el hueso no estaría de otra manera presente.

Para el defecto calvarial de rata, se acepta generalmente que 8 mm son de tamaño crítico, sin embargo, los defectos más pequeños se han investigado en modelos con 2 defectos por animal, permitiendo que se requieran menos animales para un estudio dado⁸.

Description	Score
Bony bridging entire span of defect at longest point (8 mm)	4
Bony bridging over partial length of defect	3
Bony bridging only at defect borders	2
Few bony spicules dispersed through defect	1
No bone formation within defect	0





4	3	2	1
			

Figura 2. Tejido mineralizado formado dentro del defecto⁸.

1.4. Andamios

Podríamos definir andamio como la combinación de determinados elementos para la conformación de materiales que puedan usarse como potenciales sustitutivos óseos y/o tejidos biológicos, brindando soporte, resistencia y biocompatibilidad⁹.

El tejido óseo en condiciones normales, tiene la capacidad de regenerarse de manera espontánea, siempre y cuando el tamaño del defecto no supere ciertas dimensiones, también se podría ver afectada la regeneración ósea por algunos otros factores como podrían ser osteoporosis o síndromes que afecten directamente la capacidad de regeneración, en estos casos se pueden utilizar biomateriales de injerto de hueso o andamios para facilitar la formación de hueso en las áreas defectuosas⁹.

Un andamio ideal deberá poseer diversas características como es proporcionar tres dimensiones de apoyo para la migración celular, la proliferación, la diferenciación, también debe fungir su función de andamio

propriadamente dicha para la formación de nuevo tejido óseo en las áreas defectuosas.

Además deberán cumplir con ciertas propiedades tales como: ser biodegradables, biocompatibles, porosos, con propiedades mecánicas adecuadas, maleables o inyectables y la característica más destacable, tener compatibilidad y afinidad por las proteínas de la matriz ósea y factores osteogénicos.

Algunos polímeros de origen natural, biodegradables como la colágena elastina y fibrina, han sido estudiados y utilizados como materiales para injertos óseos o de cartílago para reparar defectos con aplicaciones ortopédicas y odontológicas¹⁰.

1.4.1. Antecedentes

Se tiene registro desde épocas muy remotas, como es el caso de la civilización egipcia, el uso de materiales de origen no biológicos, comúnmente metales u otros materiales naturales, para tratar heridas y algunas enfermedades. Incluso en México, algunas civilizaciones prehispánicas estaban familiarizadas con el uso de cuarzo y piedras preciosas para restaurar dientes y huesos^{11, 12}.

Sin embargo, el registro de procedimientos y materiales para la restauración del cuerpo, tal y como los conocemos actualmente, tuvo sus inicios en la década de los 50, justo al término de la segunda guerra mundial. Y fue a partir de entonces cuando la demanda de materiales para restaurar el cuerpo humano tuvo su auge, pues eran muchas las personas que requerían de reconstrucciones óseas a causa de mutilaciones o eventos propios de una guerra de tal magnitud. Fue en esta etapa donde se empezaron a consolidar los conceptos de biomateriales y biocompatibilidad^{12, 13}.

La ingeniería tisular (o de los tejidos) es un campo multidisciplinario que involucra la aplicación de los principios y métodos de la ingeniería, física y la ciencia de la vida, para el entendimiento de la interrelación función-estructura, en un tejido patológico y normal, así como el desarrollo de substitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función tisular^{11, 12, 14}.

La meta de la ingeniería tisular es superar las limitaciones de los tratamientos convencionales basados en el trasplante de órganos y la implantación de biomateriales; para producir una fuente de órganos “artificiales” inmunológicamente tolerantes y, substitutos de tejidos que puedan crecer con el paciente. Dichos implantes deben permitir una reparación permanente de órganos y tejidos dañados, sin la necesidad de terapias suplementarias, las cuales hacen al tratamiento más caro a largo plazo^{11, 12, 13}.

Cuando se repara y/o regenera un tejido, se debe mejorar el proceso de reparación natural, la cual constantemente produce cicatrices no funcionales o pobremente funcionales en lugar de un tejido normal. Con respecto a la reposición o el reemplazo, el tejido “base” puede ser creado in vitro y posteriormente implantado; para esto se utiliza un componente celular unido a una estructura de forma apropiada, conocido como andamio^{13, 14}.

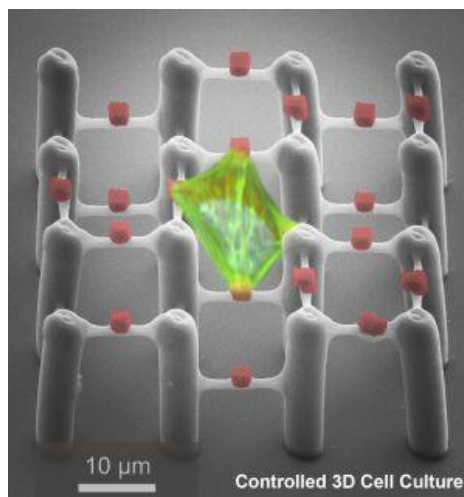


Figura 3. Imagen 3D de andamio polimérico¹⁵.

CAPÍTULO II: BIOMATERIALES

2.1. Definición

Un biomaterial es un material sintético o de origen orgánico utilizado para crear dispositivos capaces de reemplazar una parte de un sistema vivo o de funcionar en contacto directo con un tejido vivo de manera segura, confiable económicamente y biocompatible¹⁶.



Figura 4. Diferentes tipos de biomateriales: poliméricos, cerámicos y metálicos¹⁷.

2.2. Clasificación de biomateriales

Dentro de los tipos diferentes tipos de biomateriales que se usan en los diferentes procedimientos clínicos, podemos encontrar tres principales clases, en las que se encuentran los materiales metálicos, cerámicos y poliméricos¹⁹.

2.2.1. Materiales Metálicos.

Son sustancias inorgánicas que están formados por uno o mis elementos metálicos, pudiendo contener también algunos no metálicos como por ejemplo Carbono, Nitrógeno, Oxígeno, etc. Los metales tienen una estructura cristalina en la que los átomos están dispuestos de manera ordenada como

consecuencia de su enlace atómico de tipo metálico. Como características generales, presentan buenas conductividades térmicas y eléctricas, relativa alta resistencia mecánica, elevada rigidez, ductilidad o conformabilidad y resistencia al impacto. Los metales son particularmente Útiles en aplicaciones estructurales o de carga. Ocasionalmente se utilizan en forma elemental aunque se prefiere normalmente el empleo de sus combinaciones denominados aleaciones con el fin de mejorar ciertas propiedades^{18, 19}.



Figura 5. Implantes de titanio²⁰.

2.2.2. Materiales cerámicos

Las propiedades generales de los materiales cerámicos son consecuencia del tipo de enlace químico con que se encuentran unidos sus átomos como son los enlaces iónicos y covalente. Son materiales complejos que contienen elementos químicos tanto metálicos como no metálicos. Comúnmente los cerámicos son duros, frágiles con baja tenacidad y ductilidad, presentan altos puntos de fusión y bajas conductividades eléctrica y térmica, así mismo se

comportan con relativa alta estabilidad en la mayoría de los medios más agresivos, debido al equilibrio de sus fuertes enlaces^{18, 19}.

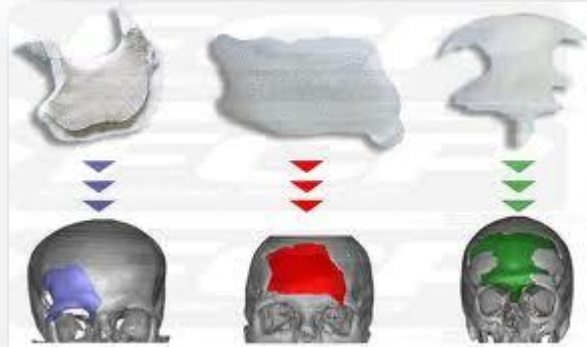


Figura 6. Prótesis cerámicas para la región craneal²¹.

2.2.3. Materiales poliméricos.

Los polímeros constituyen una rama especial de la química orgánica. Si el concepto de celdilla atómica unitaria es fundamental para la comprensión estructural de los materiales metálicos y cerámicos, en el caso de los polímeros la unidad básica estructural son las moléculas. Los polímeros son moléculas gigantes con pesos moleculares del orden de 10.000 a 1.000.000 g/g.mol, son ligeros, resistentes a la corrosión y aislantes eléctricos pero tienen relativamente baja resistencia a la tensión y no son adecuados para ser usados a temperaturas elevadas. Los mecanismos de polimerización pueden dar polímeros por adición, que se producen uniéndose covalentemente las moléculas formando cadenas que pueden tener miles de elementos moleculares (meros) en su longitud y también se forman polímeros por condensación, cuando se unen dos o más tipos de moléculas mediante una relación química que elimina un producto colateral como es el agua. Estructuralmente los polímeros pueden ser lineales, que están formados por

largas cadenas de miles de moléculas y polímeros de red, que son estructuras reticulares tridimensionales producidas mediante un proceso de enlaces cruzados. Los polímeros sintéticos tienen propiedades mecánicas relativamente buenas, y su forma y tasa de degradación pueden ser fácilmente modificadas. Sin embargo, sus superficies son hidrofóbicas y no poseen señales de reconocimiento celular. Los polímeros naturales tienen la ventaja de ser biodegradables y poseer componentes similares a componentes extracelulares naturales, lo que podría influir positivamente en el soporte, adhesión y función celular, no obstante, algunos de ellos poseen propiedades mecánicas limitadas. Ejemplos de estos materiales son: polímeros sintéticos como policaprolactona, ácido poliláctico-coglicólico, polietilenglicol, polivinilalcohol, poliuretano, y polímeros naturales como alginato, colágeno, gelatina, quitina y quitosano^{18, 19}.

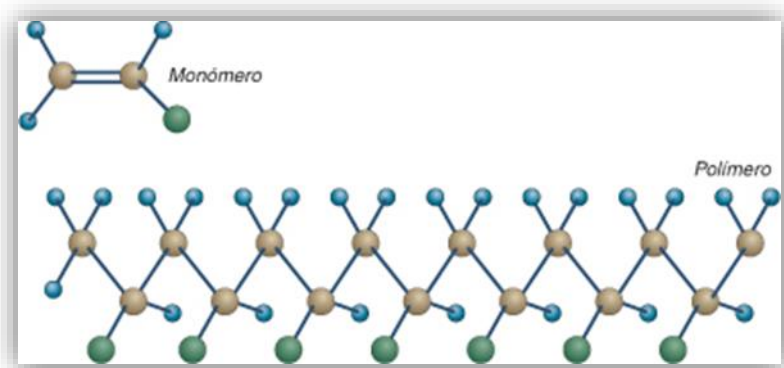


Figura 7. Estructura de un polímero²².

2.2.4. Colágena tipo I

La colágena es una proteína en forma de fibras que mantiene la fuerza y flexibilidad de los tejidos biológicos, se encuentran presentes en todos los organismos pluricelulares y son secretadas por células del tejido conjuntivo

como los fibroblastos. Es el componente más abundante de la piel y de los huesos cubriendo casi un 25% de la masa total de los mamíferos.

Existen diferentes tipos de colágena, de acuerdo a su secuencia de aminoácidos, aunque todas las clases de colágena forman una triple hélice, sin embargo, la longitud de la hélice, así como la naturaleza y tamaño de la porción no helicoidal de la molécula es lo que varía de tipo en tipo.

El tipo de colágena que se abordará en este trabajo es la colágena del tipo I, llamada así por ser la primera colágena caracterizada, debido a que es la más abundante en el organismo, además de su estructura filamentosa en forma de red^{23, 24}.

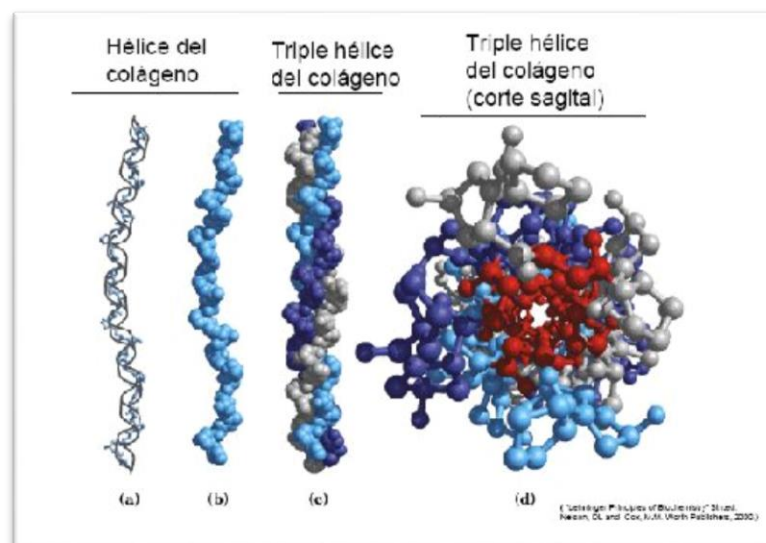


Figura 8. Colágeno, formación de triple hélice²⁵.

2.2.5. Alginato

El alginato es un polisacárido de origen marino, está formado por dos tipos de monosacáridos, los dos con un grupo ácido, el ácido gulurónico y el ácido manurónico. Las algas sintetizan el alginato inicialmente como un polímero de

ácido manurónico, que posteriormente modifican transformando unidades de manurónico en gularónico mediante una epimerización enzimática.

La composición del alginato depende también del grado de desarrollo del alga. Las algas más jóvenes tienen menor contenido de alginato, y con menor viscosidad y capacidad gelificante, que las algas maduras. El alginato puede tener un peso molecular de hasta 100.000, dependiendo del tipo de alga, siendo los más largos los de laminaria japónica. A veces se hidroliza también para su comercialización a distintos tamaños, dependiendo de la aplicación a la que se destine.²⁶

Durante el almacenamiento de las algas secas antes de su procesado, o incluso del producto en polvo, el alginato se degrada con facilidad en presencia de oxígeno, disminuyendo su viscosidad. La forma ácida es la menos estable, y la sal sódica la más estable. En disolución, es estable entre pH 5,5 y pH 10.^{26,27}

Se estima que aproximadamente se produce 30,000 toneladas anualmente de este material, por la abundancia de este material. Los alginatos se han convertido en una familia extremadamente importante de polisacáridos debido a su utilidad en la preparación de hidrogeles a condiciones de pH, se ha llegado a pensar que un futuro cercano pudiera ser la base para la realización de diversos componentes que se podrían ser utilizados en la industria y desarrollo de biomateriales. El alginato es un componente importante en industrias diversas, incluyendo su uso en el campo de la medicina, se piensa que posee diversas actividades fisiológicas, como es actividad antitumoral, inmuno-regulación, inducción a la regeneración etc. También participa en la reparación de lesiones de la piel, así como la inmovilización de enzimas y células. Sin embargo, la aplicación de alginato en medicina ha sido muy limitada por su gelificación. En presencia de cationes bivalentes (Ca^{2+} , Sr^{2+} y Ba^{2+}) a bajas concentraciones, forma hidrogeles estables a través de interacción iónica entre cationes y grupos funcionales carboxílicos ubicados

en la cadena polimérica; ha sido utilizado ampliamente para trasplantes celulares, regeneración de piel, cartílago, hueso, hígado y tejido cardíaco. Debido a su naturaleza hidrofílica, la siembra de células en andamios de alginato es simple y rápida. Para estabilizar y disminuir la solubilidad del polímero en soluciones acuosas y medio de cultivo, se realiza el entrecruzamiento de las cadenas alginato. Este procedimiento permite su uso como estructura de soporte para células sembradas, al ser utilizado como andamio de regeneración *in vitro* o *in vivo*. Se degrada cuando iones Ca^{2+} son intercambiados por otros iones presentes en fluido corporal, como Na^{+} , al ser utilizado *in vivo*^{26, 27}.



Figura 9. Alginato²⁸.

2.2.6. Spongostan

Es una gelatina de colágena desnaturalizada térmicamente, que puede ser preparada por medio de extracciones acidas (tipo A) o alcalinas (tipo B) se puede extraer de diversas zonas anatómicas porcinas como son: piel, hueso o tendón, seguida por un tratamiento térmico en un ambiente acuoso

(hidrolisis). Por último, el producto final se separará usando diferentes métodos, como pueden ser, sedimentación, filtración y centrifugación.

Este tipo de andamios se compone de unos 18 aminoácidos diferentes, los cuales conforman una estructura de triple hélice, forman entre un tercio o la mitad de todos los aminoácidos de la estructura de la gelatina, otros aminoácidos secundarios son prolina e hidroxiprolina. Se puede conformar estructuras de diversas formas como: películas, esponjas, geles o fibras.

Este material posee una larga historia de uso en la industria farmacéutica, se ha utilizado para la manufactura de capsulas, ungüentos etc. Debido a sus propiedades hemostáticas, han sido utilizadas en áreas quirúrgicas como adhesivos y absorbentes²⁹.



Figura 10. Spongostan³⁰.

CAPÍTULO III: INTERACCIONES CELULARES

Los antígenos conocidos como iniciadores de la respuesta de rechazo a los aloinjertos o xenoinjertos son las glucoproteínas de la superficie de la membrana celular. Los componentes citoplasmáticos y nucleares no ocasionan esta reacción. Se piensa que el mecanismo iniciador de la respuesta inmunológica es el efecto citotóxico de una célula sobre otra, este mecanismo es más efectivo cuando la célula infectada es un linfocito. Así pues, el reconocimiento de un injerto es una función de antígenos de histocompatibilidad o componentes estructurales de la superficie de membrana celular dados por el injerto. El reconocimiento del injerto es un fenómeno celular del huésped³¹.

Una función importante de la respuesta inflamatoria es la liberación de leucocitos en el sitio de la lesión y activarlos. Los leucocitos destruyen bacterias, eliminan tejido necrótico y sustancias extrañas, pero una vez activados pueden inducir el daño tisular y prolongar la inflamación, ya que los productos de los leucocitos también pueden lesionar a tejidos normales del huésped.

La secuencia de acontecimientos en el reclutamiento de los leucocitos a partir de la luz vascular al espacio extravascular consta de: 1) marginación, adhesión al endotelio y rodamiento a lo largo de la pared vascular; 2) adhesión al endotelio; 3) transmigración entre células endoteliales y 4) migración en los tejidos intersticiales hacia un estímulo quimiotáctico. Donde se encuentran mediados por la unión de moléculas de adhesión complementarias a los leucocitos y superficies endoteliales³².

3.1. Marginación y rodamiento

Al fluir la sangre de los capilares a las vénulas poscapilares son lanzadas a la pared vascular, además como los hematíes se mueven más rápido que los leucocitos son empujados fuera de la columna axial central, para tener mayor interacción con las células endoteliales de revestimiento y acumularse en la periferia de los vasos. Posteriormente los leucocitos ruedan sobre la superficie endotelial, adhiriéndose a lo largo del camino mediadas por las selectinas³².

3.2. Adhesión y transmigración

La adhesión a las superficies endoteliales esta mediada por las integrinas expresadas en las superficies celulares de los leucocitos y que también funcionan como receptores celulares para la matriz extracelular, pero estos no se adhieren hasta que los leucocitos son activados por las quimiocinas.

Cuando los leucocitos adherentes se encuentran con las quimiocinas, las células se activan y las integrinas sufren cambios en su conformación y se agrupan, convirtiéndose en células de gran afinidad³².

3.3. Quimiotaxis

Posteriormente los leucocitos migran a los sitios de infección o lesión a lo largo de un gradiente químico, tanto sustancias exógenas como endógenas a partir de diversas combinaciones de mediadores químicos, principalmente por la familia de receptores constituida por siete proteínas G transmembrana. El tipo de leucocito que migra varía con la edad de la respuesta inflamatoria y con el tipo de estímulo, donde en la mayoría de las formas de inflamación aguda predominan los neutrófilos en el infiltrado inflamatorio durante las primeras 6 a 24 horas y son sustituidos por monocitos a las 24 a 48 horas³².

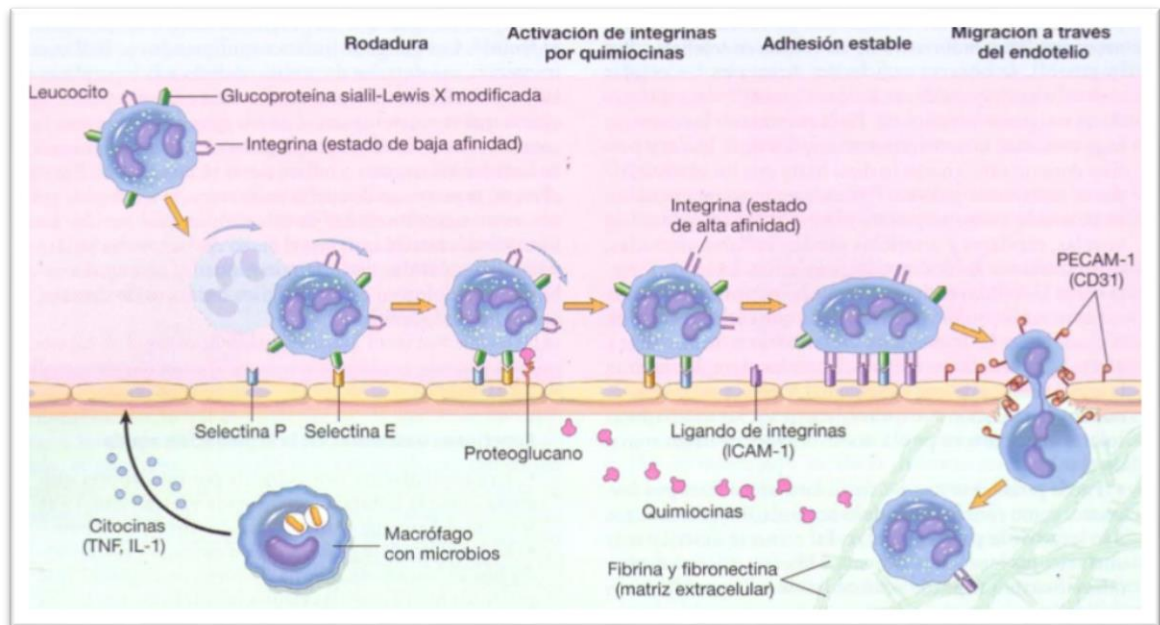


Imagen 11. Proceso de migración leucocitaria a través de los vasos sanguíneos³².

3.4. Biocompatibilidad

Una de las características más importantes que deberá poseer un material usado en el campo de los biomateriales es la correcta asimilación y conjugación de los materiales con los tejidos vivos y el organismo. Por lo que podríamos definir biocompatibilidad como la propiedad que permite a un material permanecer en contacto íntimo con un organismo vivo, ejerciendo su función sin dañarlo y sin ser dañado por él^{16, 33}.

3.5. Biomecánica

La biomecánica la podemos definir como una rama de la biofísica encargada del estudio de las leyes de la mecánica aplicada a las estructuras de los seres vivos y sus fenómenos vitales. Así la biomecánica se interesa por el movimiento, equilibrio, la física, la resistencia, los mecanismos lesionales que

pueden producirse en el cuerpo humano como consecuencia de diversas acciones físicas. Mecánicamente los huesos son estructuras mecánicas anisótropas, más exactamente tienen propiedades diferentes en las direcciones longitudinales y transversales^{34, 35}.

3.6. Biodegradación

La biodegradación es la propiedad que tiene un material o sustancia para ser descompuesto o degradado por organismos vivos. Pero no todas las sustancias son biodegradables bajo condiciones ambientales naturales, por lo que son nombradas como sustancias recalcitrantes.

La velocidad de biodegradación de las sustancias depende de varios factores, principalmente de la estabilidad que presenta su molécula, del medio en el que se encuentran y de las enzimas de dichos agentes, lo cual les permitirá la biodisponibilidad para los agentes biológicos.

La biodegradación es la característica de algunas sustancias químicas de poder ser utilizadas como sustrato por microorganismos, ya que son empleadas para la producción de energía (por respiración celular) y crear otras sustancias como aminoácidos, nuevos tejidos y nuevos organismos. Es por ello que la biodegradación es un proceso natural ventajoso, no sólo por permitir la eliminación de compuestos nocivos impidiendo su concentración, sino que además es indispensable para el reciclaje de los elementos en la biosfera, permitiendo la restitución de elementos esenciales en la formación y crecimiento de los organismos (carbohidratos, lípidos, proteínas). Así la descomposición puede llevarse a cabo en presencia de oxígeno (aeróbica) o en su ausencia (anaeróbica)^{34, 35}.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la gama de opciones para el tratamiento de defectos óseos va encaminada hacia la ingeniería de tejidos, así como al uso de biomateriales usados como andamios para el relleno de defectos óseos causados por diversos factores entre los que destacan factores genéticos, traumatismos y extirpaciones tumorales, que comprometen la estabilidad y la regeneración por si mismas de las lesiones. El estudio de biomateriales para la aplicación clínica es de vital importancia para el desarrollo de nuevas técnicas y métodos para el tratamiento de lesiones óseas, así como conocer las propiedades clínicas de los diferentes materiales a utilizar durante el ensayo, un dato de relevante y de importancia trascendental es conocer el comportamiento post operatorio de los biomateriales, así como reconocer la biodegradación y biocompatibilidad de cada uno de ellos.

HIPÓTESIS

El andamio elaborado con colágena tipo I alógena tendrá una interacción celular positiva en el sitio de implante, incrementado la migración celular y nutrición del proceso de regeneración mediante angiogénesis.

OBJETIVOS

Objetivo general.

Determinar e identificar el biomaterial que interactúe de manera más eficiente con las células adyacentes al defecto, así como sus principales características durante el proceso de regeneración ósea en un periodo de 7,14 y 21 días en defectos de tamaño crítico en ratas wistar.

Objetivos específicos

Elaborar andamios de colágena tipo I alógena y alginato de sodio para el desarrollo de la fase clínica.

Valorar la biocompatibilidad de tres andamios confeccionados con colágena tipo I alógena, alginato de sodio y colágena comercial de origen porcino (verificar).

Determinar el grado de biodegradación de los tres andamios en un periodo de treinta días en la zona del defecto.

Determinar si algún material estimula el proceso de regeneración ósea en los defectos de tamaño crítico en ratas wistar

METODOLOGÍA

Se utilizaron 9 ratas macho, cepa wistar de 18 semanas de edad y de un peso de 250 gramos, dichas ratas se dividieron aleatoriamente en 3 grupos, cada grupo asignado para un biomaterial distinto (Alginato, Colágena tipo I y Spongostan) siguiendo el parámetro de la norma oficial mexicana NOM-052-ZOO 1999, la cual describe las especificaciones de técnicas, cuidados y uso de animales de laboratorio, además de los procedimientos establecidos por el comité de ética de la Facultad de odontología de la UNAM.

PROTOCOLO PARA LA OBTENCIÓN DE COLÁGENA TIPO I DE COLAS DE RATA.

- Seleccionar 5 colas de rata (almacenadas a -20°C) y desinfectarlas con etanol al 70% dejándolas completamente sumergidas.
- Remover la piel.
- Remover los tendones de la cola y colocarlos en etanol al 70% para desinfectarlos.
- Pesar los tendones y agregar una solución de ácido acético pre-enfriada al 0.5M, en un volumen de 500ml.
- Dejar agitar a 4°C durante 48-72 Horas para disolver los tendones.
- Centrifugar a 4°C a 7500 rpm durante 30 minutos, posteriormente descartar el Pellet.

- Agregar un volumen de 500 ml de solución con NaCl 10% al sobrenadante para precipitarlo a 4°C, dejar que el proceso se realice durante la noche y al día siguiente la colágena suspendida en la parte superior será mucho más fácil extraerlo.
- Recuperar la colágena insoluble por centrifugación durante 30 minutos a 7500 rpm a 4°C.
- Descartar el sobrenadante y resuspender el botón en ácido acético a una concentración de 0.25M (dejar toda la noche en el agitador magnético en una cámara fría); no agregar mucho ácido acético ya que puede diluir el colágeno.
- Dializar contra solución diluida de ácido acético (1:1000; 1ml por L); 0.01M a 4°C durante tres días y cambiar el buffer dos veces por día, usar una membrana de 6-8 kDa.
- Alicuotar en tubos eppendorf, congelar a -80°C y liofilizar.

PROTOCOLO PARA LA REALIZACIÓN DE LÁMINAS DE COLÁGENA

- Preparar solución de colágena a una concentración de 21 mg/ml.
- Armar un molde con la máscara de neopreno cuya base sea portaobjetos o lámina de cristal a la medida, posteriormente fijar.
- Cargar con una micro pipeta la solución de colágena a depositar en el molde, evitar la formación de burbujas.
- Una vez cargados los moldes, congelar las muestras a -20°C.
- Liofilizar las muestras durante 6 horas y posteriormente almacenar a -20°C.

Instrumental

Material del implante (Alginato, colágena tipo I, Spongostan) incluyendo material de control apropiado

- Lidocaína, 1% en peso / volumen con epinefrina 1: 100.000
- Solución salina normal estéril
- Formaldehido
- Hoja de bisturí desechable, estéril, # 15
- Mango de bisturí
- Taladro quirúrgico / dental (NSK Surgic XT Plus)
- Pieza de mano Contraangle (NSK Ti-Max)
- Pieza de mano recta
- Conductor de aguja pequeño
- Pequeño retractor autoportante
- Pinzas Adson-Brown
- Elevador de periostio
- Trepanadora de 8 mm de diámetro
- Fresa de corte transversal de 1 mm
- Aguja de calibre 18
- Aguja de calibre 25
- Aguja de calibre 27
- Jeringa de 1 ml

- Jeringa de 5 ml Equipo de protección personal: protección ocular, bata, guantes estériles, gorro quirúrgico y máscara.
- Gasas estériles

Preparación preoperatoria

Las fueron sedadas y tranquilizadas con ketamina (80mg/kg) y xilacina (10mg/kg) ambas por vía intramuscular.

Se rasuró la zona quirúrgica y se realizó antisepsia de rutina con yodopovidona.

Se aplicó anestésico a la zona quirúrgica Lidocaína, 1% en peso / volumen con epinefrina 1: 100.000.

Procedimiento quirúrgico

- Usando el bisturí, se realizó una incisión de aproximadamente 1,5 cm hacia abajo hasta el periostio sobre el cuero cabelludo desde el hueso nasal hasta apenas caudal a la cresta sagital media o bregma.
- Se aplicó contra tracción lateralmente y se descubrió la calvaria (figura 12A).
- Se dividió fuertemente el periostio que cubre el calvario por la línea media sagital con el bisturí y hasta empujar suavemente el periostio lateralmente mientras se elevó desde el cráneo subyacente usando el elevador (figura 12B).

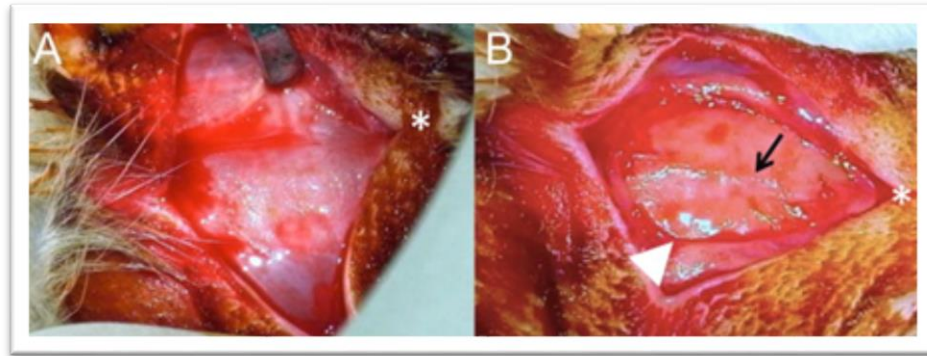


Figura 12. Procedimiento quirúrgico⁸.

- Se insertó un retractor o auto-retenedor o para esparcir los tejidos blandos y exponer el hueso subyacente, se irrigó con solución salina estéril.
- Se inició la trepanación de calvaria con el taladro quirúrgico y trépano operando a 1500 rpm o menos, se irrigó la trépanadora y la calvaria con solución salina normal estéril gota a gota aproximadamente 1 gota cada 2 segundos. La velocidad lenta de la trepanadora y de la irrigación es crítica para prevenir lesión térmica, que puede dañar el tejido en los márgenes del defecto y producir resultados confusos.
- Se continuó con la trepanación, aplicando presión suave mientras se colocó la trepanadora alrededor de los márgenes del defecto marcado (figura 13C).
- Se aplicó presión hacia abajo menor que el peso de la pieza de mano, a lo largo de este proceso, la trepanadora se retiró para evaluar los márgenes de defectos (figura 13D).



Figura 13. Procedimiento quirúrgico⁸.

- Se evaluó la profundidad del corte aplicando suavemente la presión con el elevador alrededor de la parte interna de los márgenes del defecto.
- Se colocó la cuchilla del elevador en el margen de defecto y moviéndose circunferencialmente alrededor del mismo, se aplicó una presión suave para completar el defecto levantando suavemente con el elevador (figura 14A).
- Se deslizó cuidadosamente la hoja del elevador bajo la calvaria liberada y se movió de un lado a otro, liberando la duramadre desde la parte inferior del hueso (figura 14B).
- Se liberó la duramadre, se usó el elevador como brazo de palanca para levantar la calvaria de la duramadre terminando el defecto (figura 14C).
- Se evaluó la periferia del defecto para identificar cualquier posible resto de fragmentos óseos.

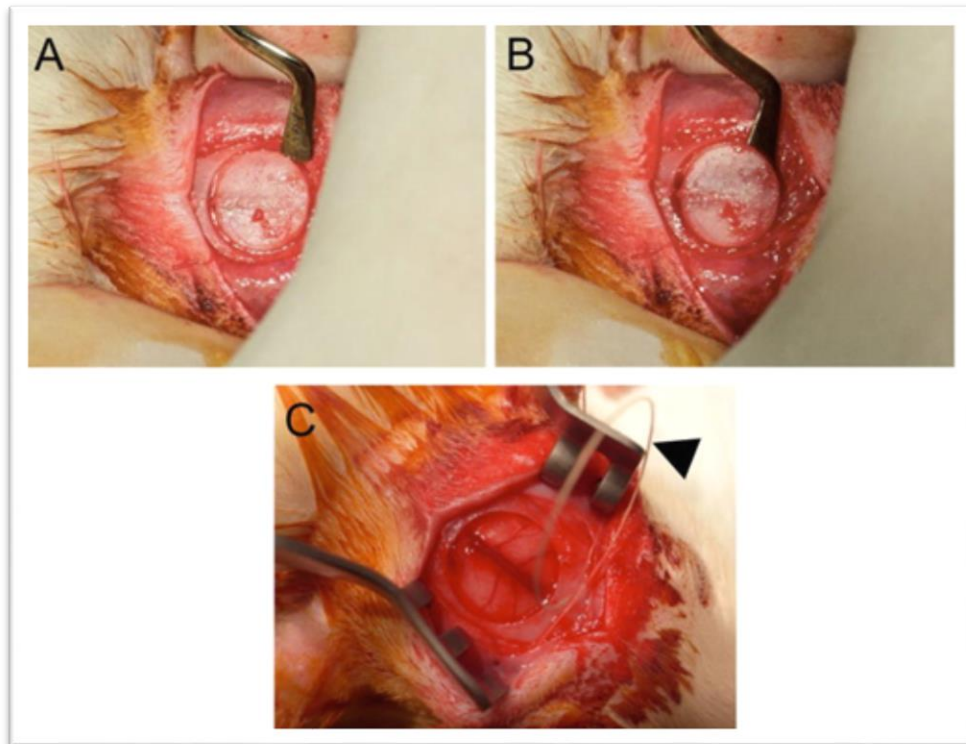


Figura 14. Procedimiento quirúrgico⁸.

- Se lavó el defecto abundantemente con solución salina normal estéril para eliminar cualquier desecho y / o virutas de hueso.
- Se colocó el material del implante en el defecto (un biomaterial diferente por grupo).
- Se cerró el periostio sobre el implante usando una sutura monocrítica 4-0 con puntos continuos.
- Después de la cirugía, se limpió cuidadosamente la cabeza con solución salina para eliminar la sangre, las ratas fueron alimentadas por rodent diet 5001 ad libitum.

EUTANASIA

Al finalizar el tiempo establecido para cada uno de los grupos (7, 14 y 21 días) los animales se sacrificaron mediante sobredosis de cloroformo hasta llegar al paro cardiorrespiratorio; posteriormente en la calvaria se realizó osteotomía de la zona del defecto la cual se realizó {o con pieza de baja rotación e irrigación constante con agua corriente. Se tuvo máximo cuidado de cortar la periferia del defecto con un margen de seguridad de 10mm; se lavó cuidadosamente la muestra y se colocó paraformaldehído al 10% durante 48 horas para su fijación.

RESULTADOS

Se realizó un análisis histológico para observar el comportamiento intercelular entre los andamios de los tres biomateriales diferentes, para evaluar las diferencias significativas en cuanto a respuesta inflamatoria y biodegradación, como resultado podemos observar por medio de fotomicrografías de los tejidos en los diferentes periodos de tiempo.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO

Alginato semana 1

Fotomicrografía con un aumento 20x y 40x teñida con tinción tricrómica de Masson del área de la calvaria, donde podemos observar fibras de colágeno gruesas con un gran número de células pertenecientes a infiltrado inflamatorio crónico compuesto por linfocitos y macrófagos, así como regiones ocupadas por alginato (figura 15 y 16).

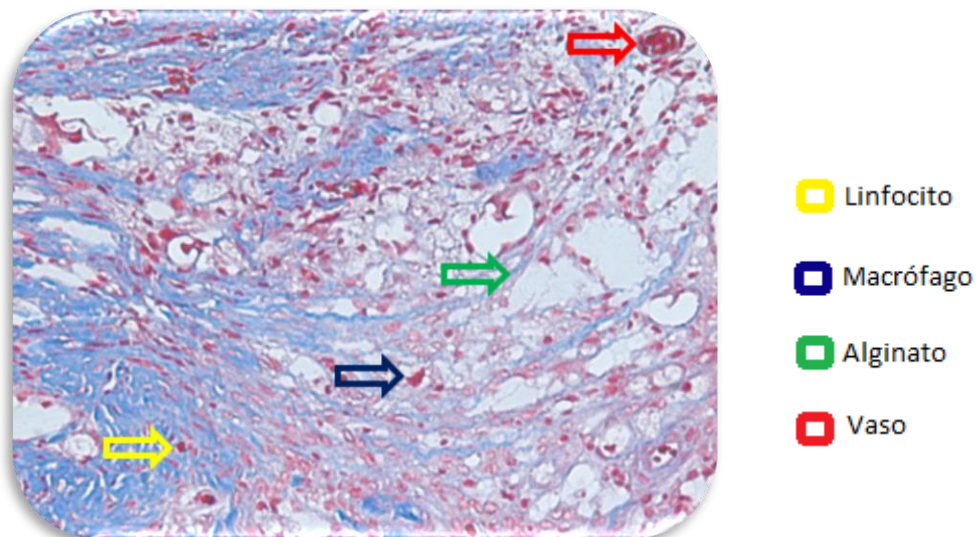


Figura 15. Alginato semana 1. Fuente propia. 20x

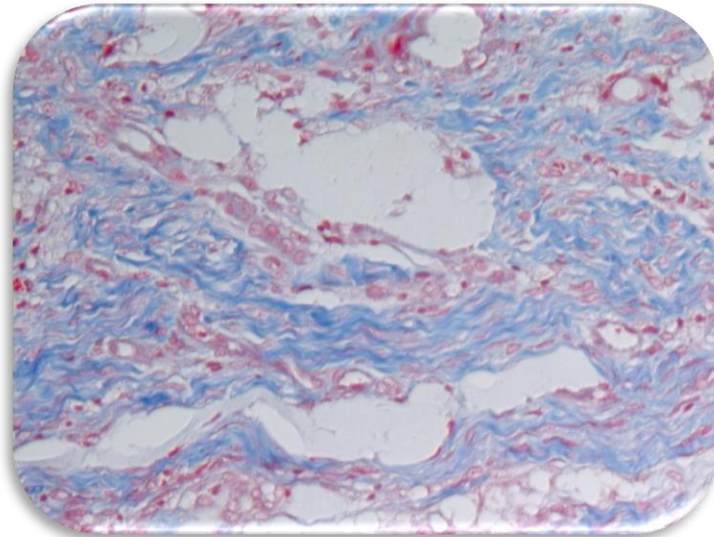


Figura 16. Alginato semana 1. Fuente propia. 40x

Fotomicrografía con aumento 20x y 40x teñida con H&E donde podemos observar infiltrado inflamatorio crónico conformado por un gran número de linfocitos y macrófagos rodeando, un gran número de células de alginato (figura 17 y 18).

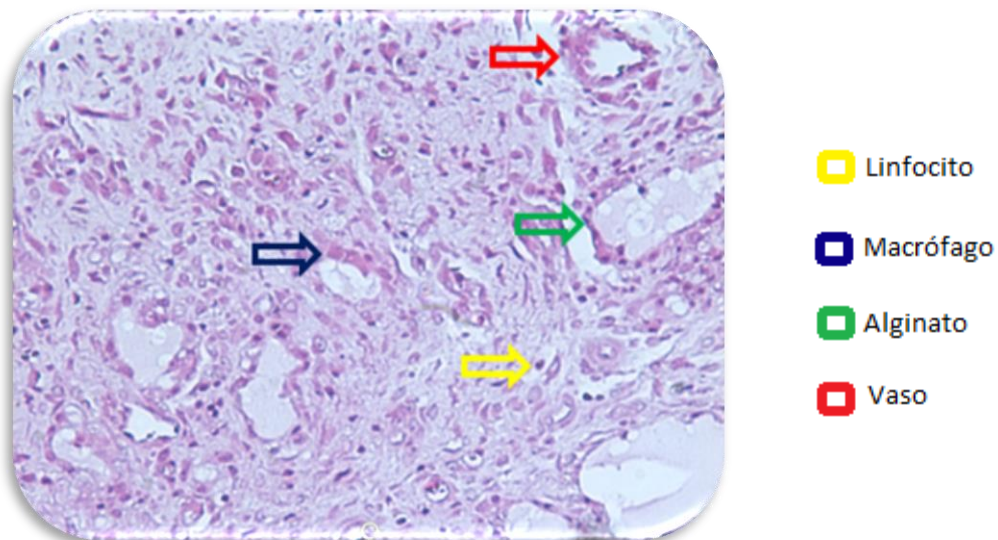


Figura 17. Alginato semana 1. Fuente propia. 40x

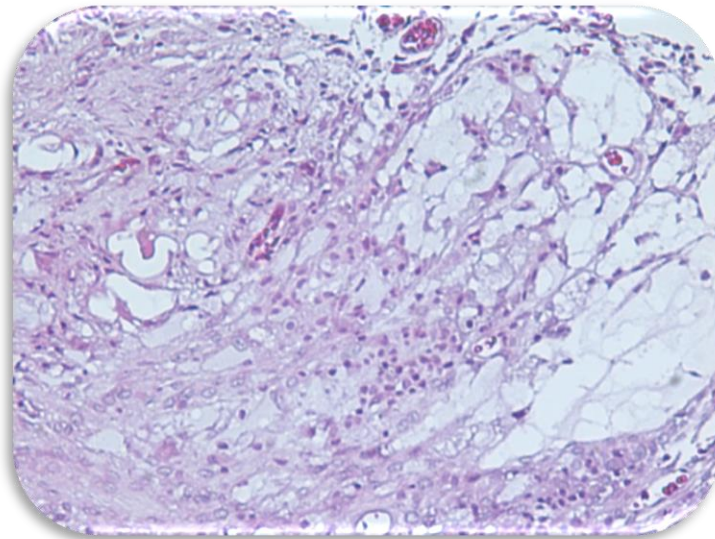
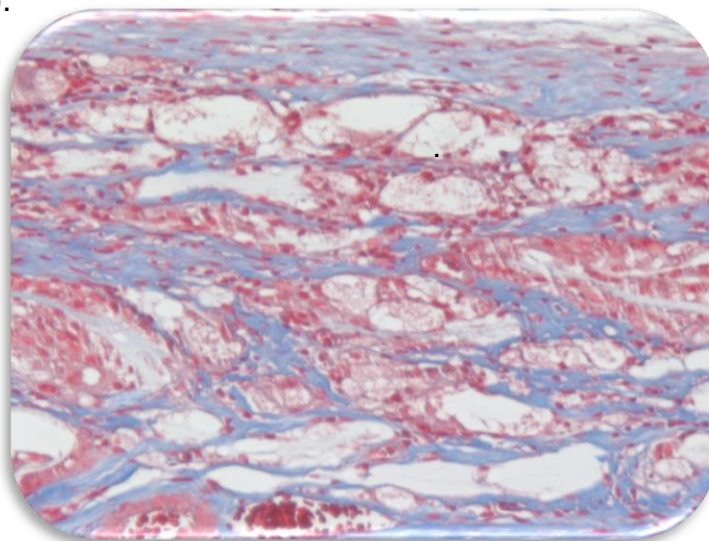


Figura 18. Alginato semana 1. Fuente propia. 20x

Alginato semana 3

Fotomicrografía a un aumento de 20x con tinción tricrómica de Masson, donde podemos ver fibras de colágena delgadas en las cuales se observa infiltrado inflamatorio crónico compuesto por linfocitos y macrófagos, se puede observar la incapacidad de biodegradación del alginato hasta la tercera semana (figura 19 y 20).







-  Linfocito
-  Macrófago
-  Alginato
-  Vaso

Figura 19. Alginato semana 3. Fuente propia.20x

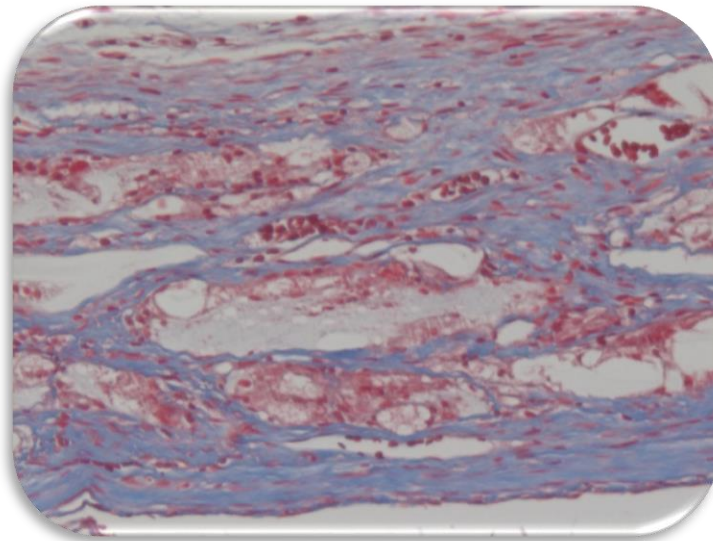
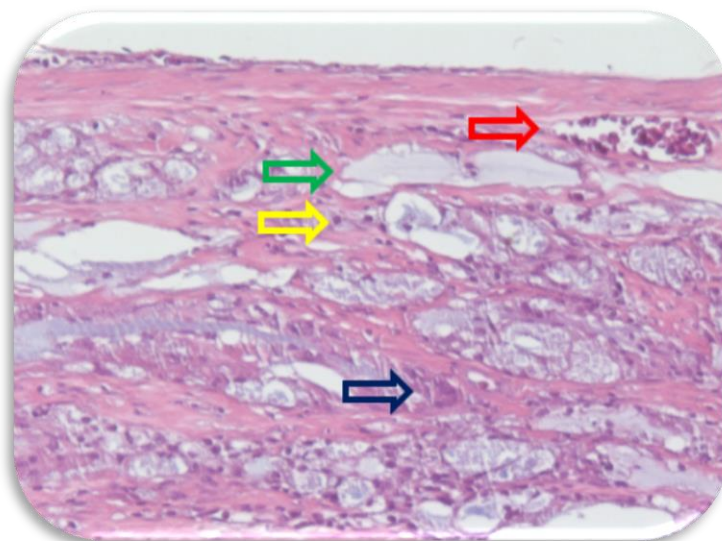


Figura 20. Alginato semana 3. Fuente propia.20x

Fotomicrografía a un aumento de 20x teñido con H&E donde podemos observar fibras de colágeno, podemos identificar infiltrado inflamatorio crónico compuesto por macrófagos y linfocitos, además de múltiples celdas de alginato (figura 21 y 22).







-  Linfocito
-  Macrófago
-  Alginato
-  Vaso

Figura 21. Alginato semana 3. Fuente propia.20x

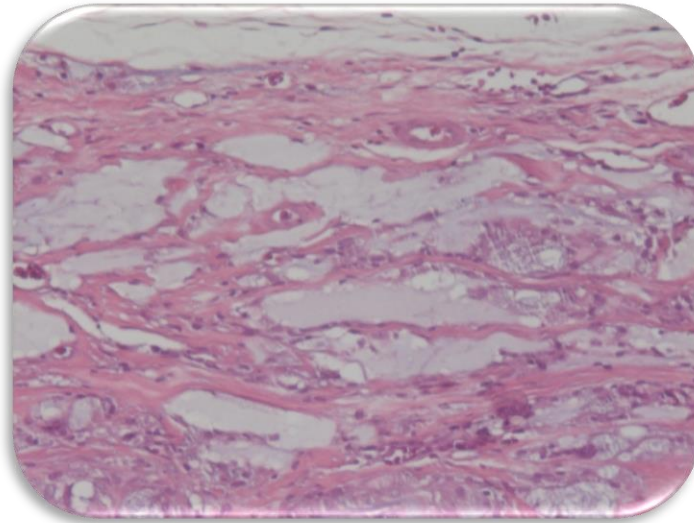


Figura 22. Alginato semana 3. Fuente propia. 20x

Colágena semana 1

Fotomicrografía a un aumento de 20x y 40x teñida con tricrómica de Masson donde podemos observar la interface entre fibras de colágena de huésped y las fibras colágenas del biomaterial con presencia de algunos linfocitos y vasos sanguíneas (figura 23 y 24).

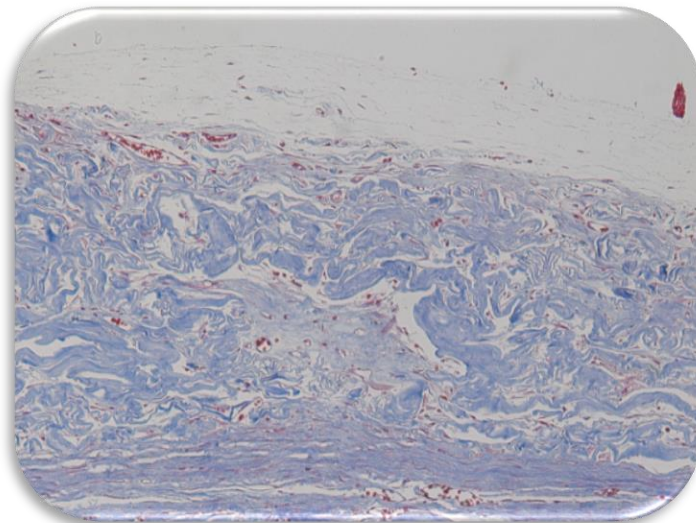


Figura 23. Colágena semana 1. Fuente propia. 20x

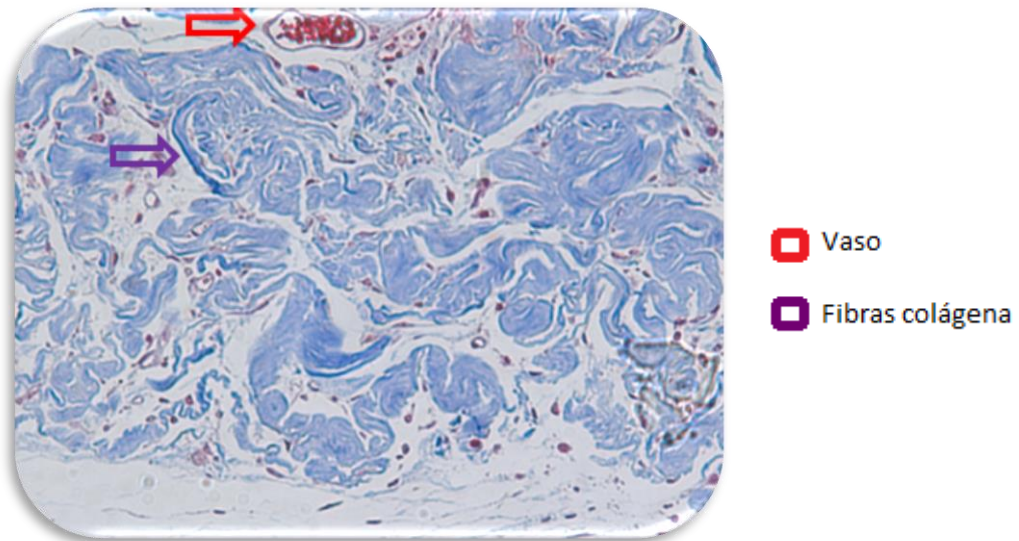


Figura 24. Colágena semana 1. Fuente propia. 40x

Fotomicrografía a un aumento de 40x teñida con H&E, donde podemos observar la interfase entre fibras de colágena de huésped y fibras colágenas del biomaterial con presencia de linfocitos, eritrocitos y vasos sanguíneos (figura 25 y 26).

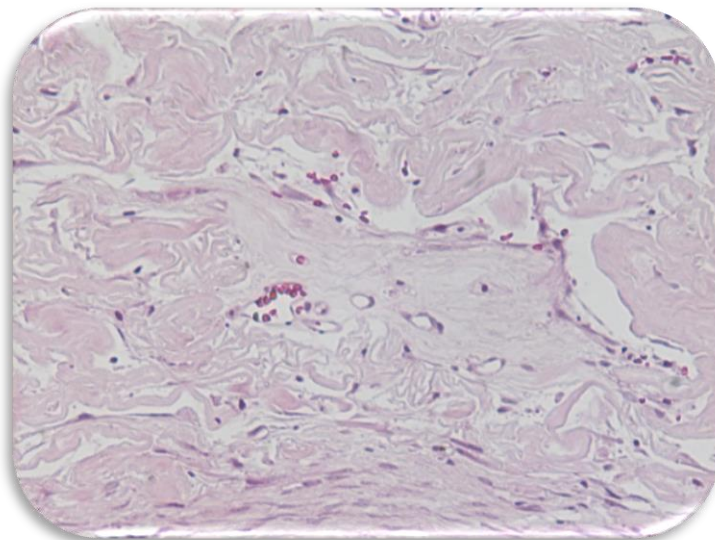


Figura 25. Colágena semana 1. Fuente propia. 40x

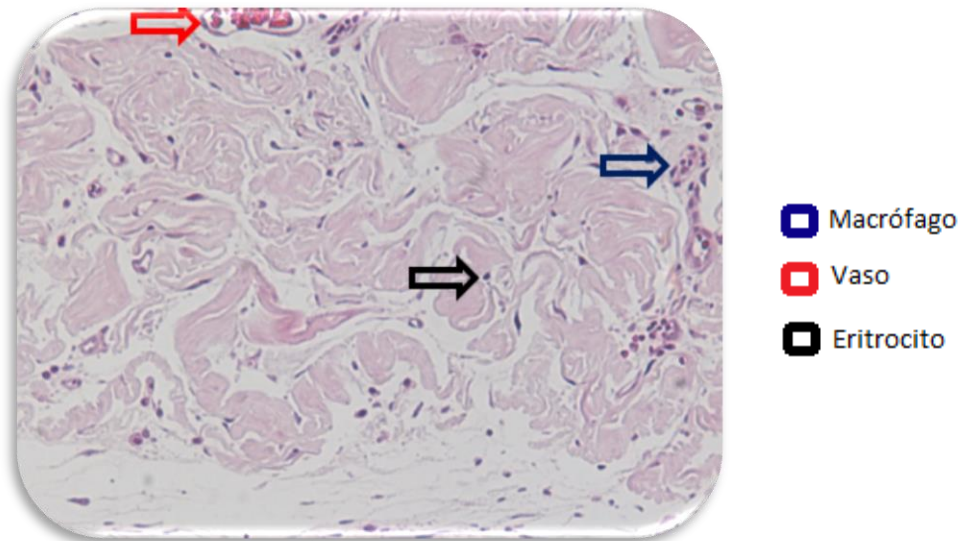


Figura 26. Colágena semana 1. Fuente propia. 40x

Colágena semana 3

Fotomicrografía con aumento a 40x teñida con tricrómica de Masson donde podemos observar fibras colágenas mejor organizadas y neoformación de tejido óseo con presencia de vasos sanguíneos (figura 27 y 28).

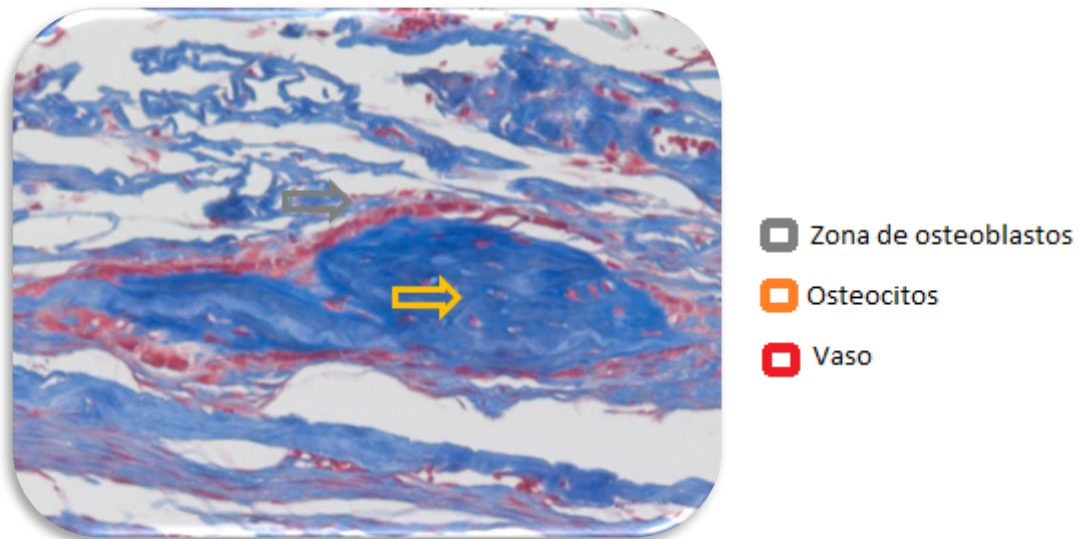


Figura 27. Colágena semana 3. Fuente propia. 40x

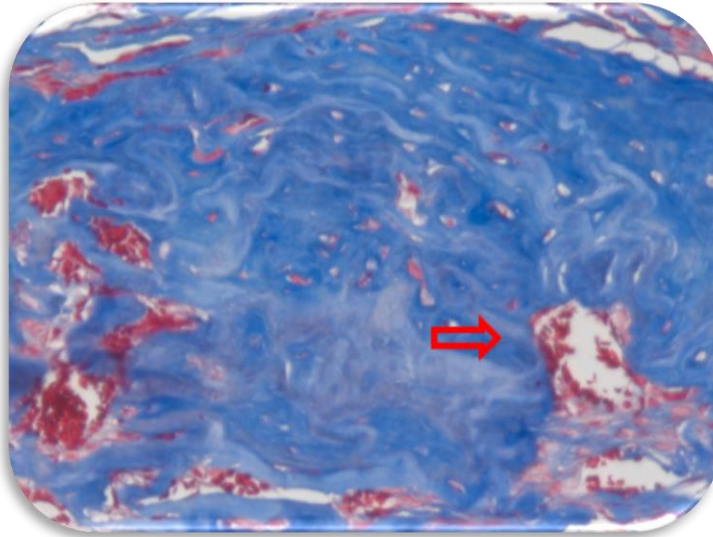


Figura 28. Colágena semana 3. Fuente propia. 40x

Fotomicrografía a un aumento de 20x y 40x teñido con H&E donde podemos observar matrices de colágena desorganizada, así como zonas con neoformación de tejido óseo y vasos sanguíneos (imagen 29, 30, 31).

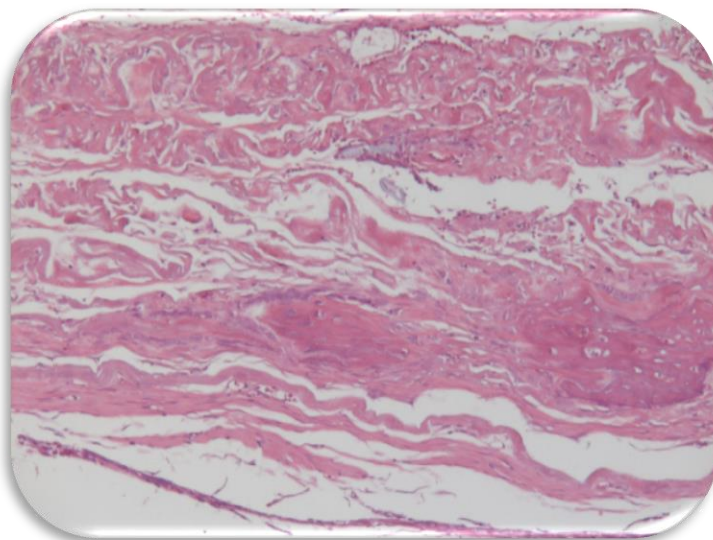


Figura 29. Colágena semana 3. Fuente propia. 20x

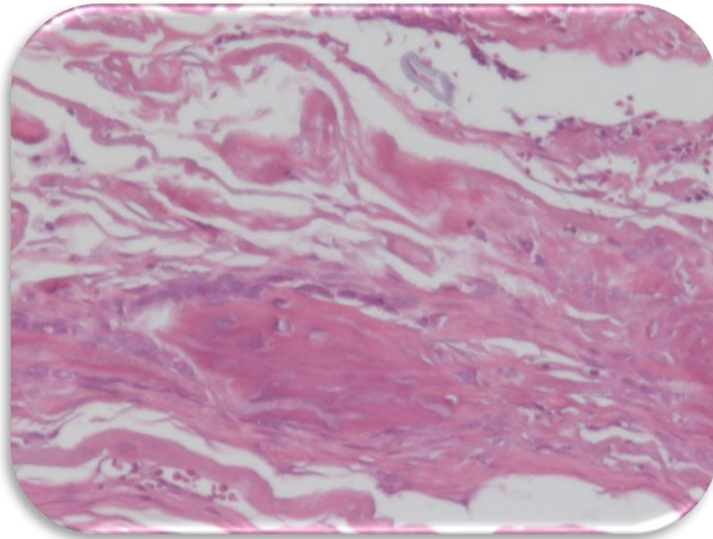


Figura 30. Colágena semana 3. Fuente propia. 40x

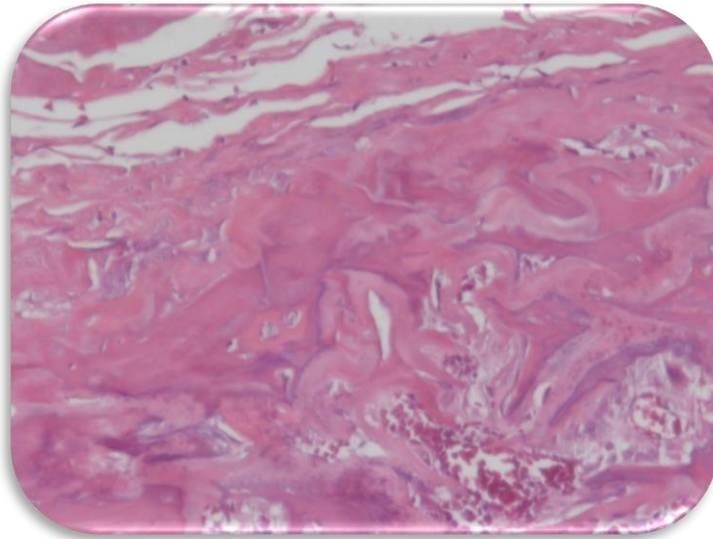


Figura 31. Colágena semana 3. Fuente propia. 40x

Grupo control spongostan

Fotomicrografía a un aumento de 10x y 20x teñida con tricrómica de Masson donde podemos observar fibras de colágena, así como infiltrado inflamatorio crónico severo compuesto por linfocitos y macrófagos (figura 32 y 33).

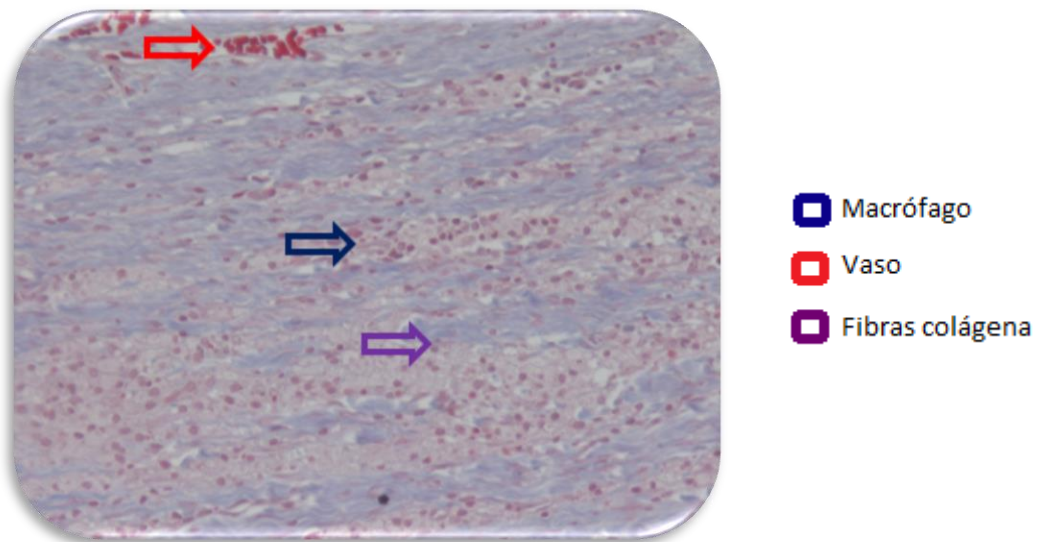


Figura 32. Grupo control Spongostan. Fuente propia. 20x

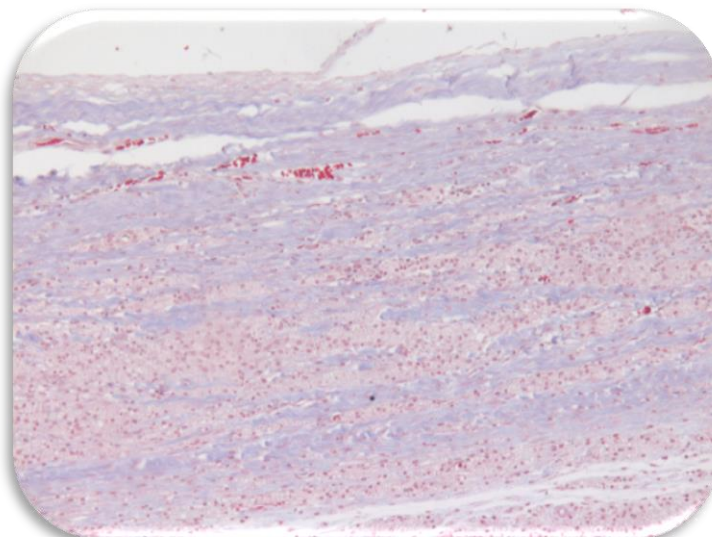


Figura 33. Grupo control Spongostan. Fuente propia. 10x

Fotomicrografía a un aumento de 10x y 20x teñida con H&E donde podemos observar de colágena con inflamatorio crónico compuesto por linfocitos y macrófagos por la presencia del biomaterial (figura 34 y 35).

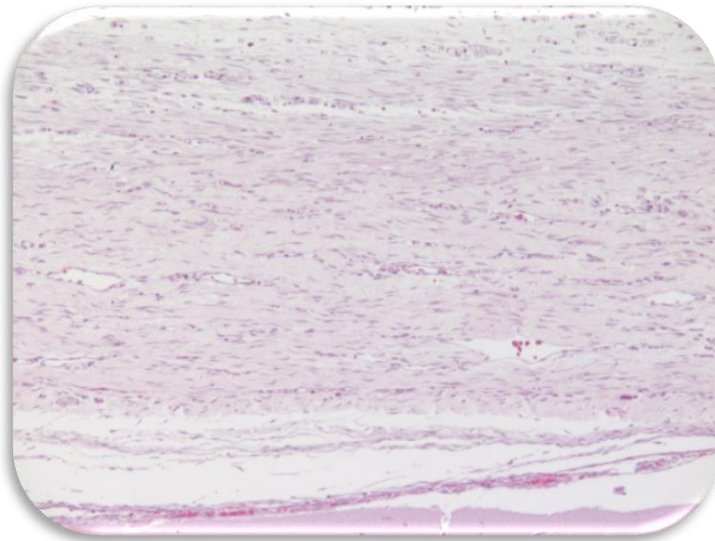
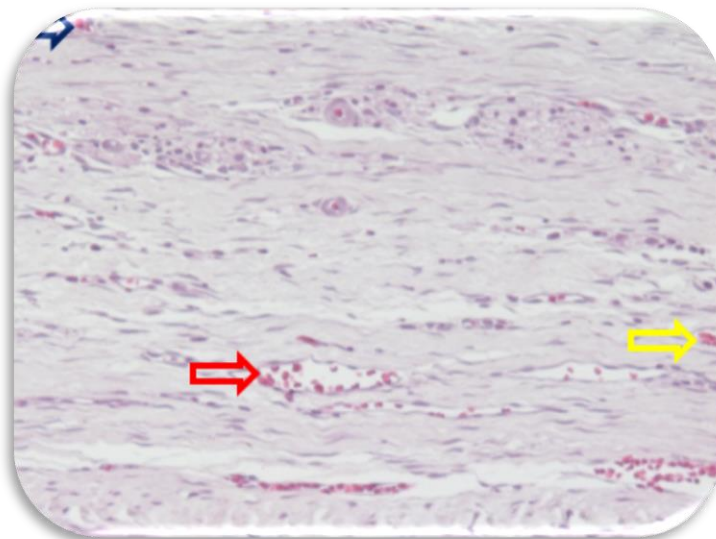


Figura 34. Grupo control Spongostan. Fuente propia. 10x



- Macrófago
- Vaso
- Linfocito

Figura 35. Grupo control Spongostan. Fuente propia. 20x

DISCUSIÓN

El uso de andamios empleados para la regeneración de tejidos deben cumplir con ciertos estándares, uno de los requerimientos indispensables es la biocompatibilidad, es decir, no deberán presentar reacciones indeseables como inflamación severa o citotoxicidad; además debe inducir la adhesión, proliferación y diferenciación celular. Las propiedades mecánicas de los andamios deberán ser lo más parecidos al tejido que se debe regenerar, dentro de estas propiedades se puede destacar la facilidad de la manipulación, la imposibilidad de colapsar durante el procedimiento, así como la seguridad de que es un material estéril para no intervenir en la susceptibilidad a una infección.

El objetivo principal de este proyecto fue comparar las propiedades de los biomateriales, como son: la biocompatibilidad¹⁶, estabilidad post operatoria, así como identificar el biomaterial adecuado para la inducción a la neoformación de tejido óseo¹.

Un factor importante es la capacidad de degradación del material en contacto con el huésped, la cual afecta las interacciones celulares, como son la proliferación celular, síntesis del tejido y la respuesta propia del hospedero¹⁰.

Estudios realizados sugieren que el alginato es una buena opción para usarse como andamio debido a la baja citotoxicidad³⁶, sin embargo, los resultados que se obtuvieron durante la realización de este trabajo reflejan que el alginato puede inducir al infiltrado inflamatorio, además de la dificultad de biodegradación del material en un periodo de 21 días.

En este trabajo se demostraron que los resultados obtenidos con el uso de colágena tipo I fueron eficientes, seguros y benéficos, debido a la promoción de la regeneración tisular y a la neoformación de tejido óseo, en comparación a los antecedentes ya registrados en este tipo de procedimientos⁹, donde se

puede observar una excelente biocompatibilidad y baja citotoxicidad, además de ser un componente extraído del mismo modelo animal.

Los antecedentes ya registrados del material utilizado como grupo control (spongostan) sugieren que el uso de este material durante procedimientos quirúrgicos óseos, inhiben la cantidad de sangre durante la fase operatoria³⁷, además de contar con estabilidad dimensional, sin embargo en este proyecto se demostró que a pesar de ser un excelente material durante la fase quirúrgica debido a que inhibe el sangrado y facilita la visión no es la mejor opción para usarse como andamio, debido a que se pudo observar que promovió el infiltrado inflamatorio severo durante los tres periodos establecidos de tiempo (7,14,21 días) donde prácticamente no hubo ninguna diferencia ni mejora a nivel histológico.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos obtenidos en la observación histológica durante el seguimiento de los grupos en 7, 14 y 21 días, usando andamios de colágena tipo I, alginato y spongostan, se puede concluir lo siguiente:

- El uso de alginato como andamio en defectos de tamaño crítico es poco funcional debido a la inflamación que produce durante el periodo post operatorio, además de no haber obtenido datos que nos puedan sugerir la estimulación a la neoformación de tejido óseo.

- El uso de colágena tipo I es el material que mostró mejores resultados desde la semana 1, debido a que el proceso inflamatorio fue mínimo en comparación con el alginato y el grupo control (spongostan). Además se demostró que en la semana 3 comenzó a mostrar signos de proliferación celular y neoformación de tejido.

- Por ser un material extraído de la misma especie la colágena disminuye la reacción inmune del hospedero hacia el andamio, además de ser un material fácil de obtener y disminuir los costos para la fabricación de andamios.

- El grupo control (spongostan) no mostró cambios significativos en las 3 semanas, en el cual se pudo observar infiltrado inflamatorio severo, además de incapacidad para la neoformación de tejido óseo. Por ello se concluye que no existe ninguna ventaja en el uso de este biomaterial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tortora G. J., Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología. 11ª ed. México: Editorial Medica Panamericana, 2013. P.p. 174-186.
2. Hallado en: <https://sites.google.com/site/profesoramariuska/unidad-i---sosten-y-movimiento/tejidooseo>
3. Estrada C., Paz A.C., López L.E., Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas, Rev. EIA. Esc. Ing. Antioq; Enero 2006; no.5.
4. Braddock M., Houston P., Campbell C., Ashcroft P. Born Again Bone: Tissue Engineering for Bone Repair. Journal APS; 1 octubre 2001; Vol. 16; no. 5, 208-213.
5. Vejarano J.C., Ruiz C.F., Ganoza C.J., Hurtado J.E. Reconstrucción de defectos óseos segmentarios postraumáticos mediante técnica de inducción de membrana. Rev. Med. Hered, 2015; 26: 76-85.
6. Hallado en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/420-2014-03-28-18%20Necrosis%20oseas.pdf>.
7. Huaroto L.J. Tumores óseos en general. Tumores benignos de los huesos. Tomo II Cirugía ortopédica y traumatológica. Hallado en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/Medicina/cirugia/Tomo_II/tumores_ose_benig.htm.
8. Spicer P.P., Kretlow J.D., Young S., Jansen J.A., Kasper F.K., Mikos A.G. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. Nat Protoc, octubre 2012; 7(10): 1918-1928.
9. Colorado A.C., Agudelo C.A., María Elena. (2013). Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: revisión. Revista Ingeniería Biomédica, 7(14), 11-23.
10. Zhao C., Tan A., Pastorin G., Ho H. K. Nanomaterial scaffolds for stem cell proliferation and differentiation in tissue engineering. Biotechnology advances, Enero 2013; 31(5), 654-68.

11. Da-Kong L, Hong-Bing T, Properties of segmented polyurethanes Derived from Different Diisocyanates, journal of applied Polymer Science, (2004).
12. Dietmar W. Hutmacher, Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissue- state of the art and future perspectives, J. Biomater. Sci. Polymer Edn, 12, (2001).
13. Heijkants R. G., Van Calk R., De Groot J., Pennings A., Design, synthesis and properties of a degradable polyurethanes scaffold for meniscus regeneration, Journal of Materials Science: Materiales in Medicine, (2004)
14. Barry J. J., Gidda HS, Scochford CA, Howdle SM, Porous methacrylate scaffolds: spercritical fluid fabrication and in vitro chondocyte responses, Biomaterials.
15. Biomaterial engineering: Cell culture in 3D environments. Laboratory Journal, 07 abril 2011. Hallado en: <http://www.laboratory-journal.com/news/scientific-news/biomaterial-engineering-cell-culture-3d-environments>.
16. Jimenez Planas Amparo. Diccionario de materiales odontologicos, 1ra edición; 2007. pp 24.
17. Bianchi A. Prótesis Implantosoportada. Ed.Amolca. ed. 1ª. pp 159-239.
18. Climent M. F. Biomateriales I. Clasificación de los Materiales. Universidad de Barcelona.
19. Smith W.F. Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales. Ed. MC. Graw-Hill; 1993.
20. Hallado en: <https://www.educa2.madrid.org/web/argos/inicio/-visor/%C2%BFque-usa-la-medicina-regenerativa-iv-biomateriales>
21. Hallado en: <http://materialesbiocompatibles.blogspot.mx/>
22. Esciencia, eventos científicos. 14 julio 2011. Hallado en: <http://web.esciencia.es/?p=239>

23. Rajan N., Habermehl J., Coté M.F., Doillon C.J., Mantovanil D. Preparation of ready to use, storable and reconstituted type I collagen from rat tail tendón for tissue engineering applications. Nat Protoc 2006; 1(6): 2753-2758.
24. Gonzalez I. Síntesis y caracterización de matrices porosas obtenidas a partir de poli(caprolactona) adicionadas con coplagena tipo I y polivinilpirrolidona, Tesis, 2013 , Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Ciudad Universitaria.
25. López M.C., Amaral R., Bussadori S. Proteolisis enzimática del colágeno dentinario. Odontoestomatología vol. 12 no. 14 Montevideo 2010.
- 26.2. Pawar SN, Edgar KJ Derivatización de alginato: Una revisión de la química, propiedades y aplicaciones. Biomateriales. 2012; 33: 3279 - 3305.
27. Fernandez A., María Elena et al. Determinación de la bioactividad de capas de alginato de sodio en discos de hidroxapatita. Rev Cubana Invest Bioméd [online]. 2014, vol.33, n.1 [citado 2017-10-10], pp. 34-43.
28. Hallado en: <http://www.infomecum.com/tratamientos/productlist/id/3/Aposito-de-alginato>
29. Rohanizadeh R, Swain MV, Mason RS. Gelatin sponges (Gelfoam) as a scaffold for osteoblast. J Mater Sci Mater Med. 2008 Mar 19 (3) : 1173-82.
30. Hallado en: <http://www.birthmarks.us/embolization.htm>
31. Dominguez C. Uso de implantes biológicos de hueso esponjoso: sustituto de injerto de hueso autólogo. Tesis, 2012 , Universidad Nacional Autonoma de Mexico.

32. Kumar V., Abbas A.K., Fausto N., Aster J.C. Robbins y Cotran – Patología estructural y funcional. Ed. Elsevier, 8ª ed. España; 2010. P.p. 37-40.
33. Guzman J., Biomateriales odontológicos de uso clínico, 4ta edición. 2006. P.p.39
34. Real academia nacional de medicina. Diccionario de términos médicos. Editorial panamericana. 1ra edición. 2012.
35. Gutiérrez, Gilberto (2005). Principios de anatomía, fisiología e higiene: educación para la salud. Editorial Limusa. pp. 67 y 68.
36. Solovieva E.V., Fedotov A.Y, Mamonov V.E., Komlev V.S., Panteleyev A.A. Fibrinogen-modified sodium alginate as a scaffold material for skin tissue engineering. Biomed Mater, 2017
37. Oladunjoye A., Schrot R., Zwienenberg-Lee M., Muizelaar P., Shahlaie K. Decompressive craniectomy using gelatin film and future bone flap replacement. Technical note. JNS, abril 2013; Vol. 118 (4); 776-782.