

# Hacia una nueva generación de biomateriales. Primera parte

Dra. Dianney Clavijo Grimaldo\*, Dr. José Edgar Alfonso Orjuela\*\*, Odontóloga Carmen Alicia Cardozo de Martínez\*\*\*  
Dr. Ciro Alfonso Casadiego Torrado\*\*\*\*, Dr. Álvaro Perea Covarrubias\*\*\*\*\*

\* Médica cirujana, especialista en Docencia Universitaria, magíster en Ingeniería Biomédica.  
Profesora, Departamento de Morfología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.  
Coordinadora, Departamento de Fisiología, Fundación Universitaria Sanitas, Bogotá, Colombia.

\*\* Físico, doctor en Ciencias Físicas. Profesor, Departamento de Física, Facultad de Ciencias,  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

\*\*\* Odontóloga, magíster en Ética e Investigación Biomédica. Profesora, Instituto de  
Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

\*\*\*\* Médico cirujano, especialista en Docencia Universitaria. Coordinador, Departamento de Morfología,  
Fundación Universitaria Sanitas, Bogotá, Colombia.

\*\*\*\*\* Físico, magíster en Física, doctor en Física de Aerosoles. Profesor contratado, Departamento de Física Matemática y de Fluidos,  
Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, España.

Correspondencia:

Dra. Dianney Clavijo Grimaldo

Cra. 30 No. 45-03, Departamento de Morfología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Tel. (571) 3165000 Ext. 15005, Cel. 3115018563

dclavijog@gmail.com

Fecha de recepción: marzo 25 de 2010

Fecha de aprobación: septiembre 17 de 2010

## Resumen

La investigación en biomateriales que favorezcan la adhesión y regeneración de tejido óseo es una prioridad a nivel mundial debido a la alta incidencia de lesiones osteoarticulares, la morbilidad asociada al daño, su impacto en la calidad de vida y el alto costo económico y social de su manejo. El concepto de “biomaterial” ha cambiado en la medida que a la ciencia de materiales se han incorporado los avances en biología molecular, ingeniería de tejidos, nanotecnología e ingeniería de superficies. El trabajo multidisciplinario ha llevado al desarrollo de materiales con excelentes propiedades mecánicas, biomiméticos, inteligentes y funcionales que interactúan con las células y con los componentes de la matriz extracelular mejorando la respuesta biológica del tejido óseo ante el implante.

**Palabras clave:** biomaterial, ingeniería de tejidos, tejido óseo.

[*Rev Col Or Tra* 2010; 24(3): 168-77]

## Abstract

Research in biomaterials that promote adhesion and bone regeneration is a priority worldwide due to the high incidence of musculoskeletal injuries, the morbidity associated with damage, impact on quality of life and high economic and social costs of their management. The term “biomaterial” has changed to the extent that the material science has incorporated advances in molecular biology, tissue engineering, nanotechnology and surface engineering. The multidisciplinary work led to the development of materials with excellent mechanical properties, biomimetic, intelligent and functionalized to interact with cells and with components of extracellular matrix to improve the biological response of bone tissue to the implant.

**Keywords:** Biomaterial, tissue engineering, bone tissue.

[*Rev Col Or Tra* 2010; 24(3): 168-77]

## Introducción

En nuestro país las lesiones óseas ocupan un lugar importante en las estadísticas de morbilidad, lo cual afecta de manera importante la calidad de vida y genera un alto costo social y económico. Las enfermedades crónicas no transmisibles, dentro de las cuales se encuentran los trastornos degenerativos osteoarticulares, ocupan el primer lugar dentro de las causas de enfermedad y muerte en la población colombiana (1). Los reemplazos articulares alcanzan una cifra aproximada de 10 000/año (2). En Estados Unidos se estima que cerca de once millones de personas han sido intervenidas para colocarles implantes, de los cuales el 51,3% corresponde a dispositivos ortopédicos para manejo de fracturas y complicaciones de la osteoartritis. Los reemplazos articulares se incrementaron en un 101% de 1988 a 1997. Si se tiene en cuenta el manejo pre, intra y posoperatorio, así como la rehabilitación a la que deben ser sometidos los pacientes, el costo de los implantes es bastante elevado. Cuando se coloca un implante puede fallar su resistencia bajo las condiciones fisiológicas de carga o puede darse una inadecuada integración del biomaterial con el hueso, lo cual conlleva al aflojamiento del implante con degradación del hueso adyacente y en muchas ocasiones a la necesidad de remover el dispositivo colocado (3, 4). Lo anterior lleva a que se reexamine e investigue continuamente sobre el diseño, desarrollo y formulación de nuevos materiales con la idea de llegar al implante que, además de ser atóxico, resistente a la fatiga y a la corrosión, promueva la neoformación de hueso con adhesión celular sobre su superficie, primer paso para que el tejido óseo se integre estructural y funcionalmente al biomaterial (osteointegración) (5, 6). En la primera parte de esta revisión, se presenta la evolución del concepto de biomaterial, las propiedades generales que determinan las características de los mismos y los avances en la denominada ‘nueva generación de biomateriales’. En la segunda parte se mostrarán las características básicas del tejido óseo visto como material y se presentará a la Nanotecnología y a la Ingeniería de Superficies como alternativas en el desarrollo de nuevos biomateriales de uso ortopédico o en la modificación de las propiedades de los materiales convencionales.

## Concepto de biomaterial

La ciencia de los biomateriales estudia las propiedades físicas y biológicas así como las aplicaciones de materiales (sintéticos o naturales) que son usados para estar en contacto con sistemas biológicos. Los biomateriales son especialmente usados en aplicaciones médicas, aunque su uso se ha extendido a aplicaciones biológicas y de diagnóstico en laboratorio clínico. Rara vez se utilizan biomateriales aislados: generalmente se integran varios de ellos para formar un dispositivo o un implante. Tradicionalmente, la mayoría de las investigaciones en biomateriales han estado dirigidas hacia la síntesis, optimi-

zación, caracterización y ensayo de biomateriales y el estudio de las interacciones del huésped con los mismos (7).

Aunque existen referencias de materiales utilizados como suturas (8), la evidencia más antigua de la presencia y efectos de un material no biológico en contacto con tejidos corporales lo constituye el Hombre de Kennewick, cuyo esqueleto —conservado en un noventa por ciento— fue descubierto en 1996 y es considerado como uno de los primeros y mejor conservados restos de humanos de América del Norte, con una antigüedad aproximada de 9000 años. El examen de su esqueleto muestra que sobrevivió a dos fracturas de cráneo y una de costilla. En su cadera derecha se encontró una punta de flecha en piedra, evidenciándose cicatrización alrededor de la misma, recuperación de una marcha funcional y, de manera indirecta, una alta tolerancia a la presencia de un cuerpo extraño (9).

El papiro egipcio de Edwin Smith, primer tratado de cirugía conocido, data del año 5000 a. C. y contiene los tratamientos quirúrgicos y médicos de la época, los métodos para el tratamiento de fracturas, así como el uso de adhesivo plástico, sutura quirúrgica, cauterización y empleo de salicilato como agente analgésico y antiinflamatorio (10). Hallazgos del año 2000 a. C. muestran evidencia de tratamientos quirúrgicos, tratamiento externo de fracturas, amputaciones y reemplazo con prótesis. Los hallazgos de Sheik-Abd-el-Gurna muestran la amputación del primer artejo y su reemplazo con una prótesis de madera tallada para imitar los rasgos anatómicos característicos y fijada por placas de madera y cuerdas de cuero al metatarsiano. La observación detallada muestra evidencia de cicatrización exitosa alrededor de la prótesis y abrasión de la parte basal, lo cual indica que fue utilizada. También hay hallazgos de implantes dentales cerámicos exitosos (11).

Los primeros estudios sobre la biorreactividad in vivo hacia implantes fueron realizados por Levert en 1829, quien estudió en perros la respuesta al oro, plata, níquel, acero y platino. Estudios similares fueron realizados por Zierold en 1924, quien observó la reacción tisular a varios metales concluyendo que el oro, la plata y el aluminio eran bien tolerados pero inadecuados mecánicamente. Con base en este estudio, fueron desarrolladas múltiples aleaciones con el objeto de combinar la ‘tolerancia’ y la fuerza mecánica. Hacia 1940 se pensó en los plásticos como alternativa a los implantes metálicos apareciendo los polímeros sintéticos, el nylon y el celofán. Los ensayos in vitro mostraron una ‘reacción marcadamente fibrótica’. En 1947, J. Cotton presentó las bases del posible uso del titanio y sus aleaciones y el teflón apareció en el ámbito científico hacia 1949 (7).

La Segunda Guerra Mundial marcó el inicio de la era de los biomateriales. Bajo una mínima regulación y de manera heroica los médicos realizaron ‘ensayos de alto riesgo’ diseñando materiales y dispositivos ante la necesidad de manejar diversas lesiones y mejorar la calidad de vida de los heridos en combate. Estos nuevos procedimientos determinaron que muchos materiales quedaran descartados en ese momento y se investigara más profundamente sobre aquellos que habían dado resultados exitosos. A partir de las observaciones de pilotos que no sufrían pérdida visual después de inclusiones oculares de poli(metilmacrilato), material utilizado en las ventanas de los aviones, se inició el trabajo conjunto entre ingenieros y profesionales de la salud sentando las bases de la multidisciplinariedad en la ciencia de materiales. Sir Harold Ridley describió una condición de ‘estabilidad’ entre el ojo y el material incluido siendo el primero en plantear el concepto de biocompatibilidad y en realizar el implante de una lente intraocular en humanos en 1949. Aunque el reporte del primer reemplazo de cadera data de 1891, el procedimiento realizado por Gluck no fue exitoso. La necesidad de rehabilitar heridos de guerra aceleró el desarrollo de materiales y procedimientos y en 1956 Haboush desarrolló el primer reemplazo metálico total con el cual se presentaron varias complicaciones. En 1958, Charnley utilizó inicialmente teflón para realizar la cúpula acetabular y posteriormente un polietileno de alto peso molecular al igual que un cemento de poli(metilmacrilato), optimizando el uso de la prótesis (7).

La primera definición de biomaterial obtenida por consenso, en 1987, fue: “Un biomaterial es un material no viable usado en dispositivos médicos, intentando interactuar con sistemas biológicos” (12). La introducción en 1990 del término Ingeniería de Tejidos, “disciplina científica dedicada a la generación de nuevos tejidos usando los principios de la ingeniería en combinación con el entendimiento y aplicación de ciencias biológicas” (13), fue de gran importancia para que un segundo consenso, en 1992, definiera los biomateriales como “materiales destinados a hacer una interfase con sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función en el cuerpo” (14). Con esta definición se incluyen como biomateriales aquellos que integran células vivas, moléculas biológicamente activas y sus andamios (sca olds). Para 1999, la Ingeniería de Tejidos fue definida conceptualmente como “la persuasión del cuerpo a repararse a sí mismo, por medio de la liberación, en sitios apropiados, de señales moleculares, células y/o estructuras de soporte” (15) y, en el año 2000, la convergencia de la ingeniería de tejidos y la investigación en células madre (stem cell) llevaron a definir la Medicina Regenerativa como la “ciencia que reemplaza o regenera células humanas, tejidos u órganos, para restaurar o establecer una función normal”. Este punto

de encuentro ha dirigido la investigación hacia la fabricación de biomateriales funcionales con el objetivo de que estos sean diseñados para interactuar con células y tejidos, oponiéndose al concepto tradicional del cuerpo humano como un recipiente pasivo del implante y a la división de los biomateriales en clases (metálicos, cerámicos y poliméricos), ya que un material de una clase única no refleja la complejidad de la estructura tisular; para que la interacción biomaterial-tejido sea posible es necesaria la introducción de biomateriales compuestos (13, 16). El avance en las técnicas de diseño de biomateriales inteligentes ha dirigido la investigación hacia el diseño de materiales que bio-mimeten la funcionalidad celular y tisular: los biomateriales nanoestructurados. Aunque las células tengan un tamaño micrométrico, in vivo están en estrecho contacto con un sustrato topográfica y estructuralmente nanométrico, la matriz extracelular (MEC). La nanotecnología provee la posibilidad de producir superficies estructuradas y materiales a nanoescala que imitan el ambiente natural de las células y promueven ciertas funciones. La combinación de estos biomateriales con la ingeniería de tejidos tiene un gran potencial de aplicación en la medicina regenerativa (17).

A pesar de la introducción de nuevas definiciones y términos, existe entre los investigadores la tendencia a hablar de reemplazos para tejidos duros (hard-tissue replacement) y para tejidos blandos (soft-tissue replacement). Entre los primeros se incluyen las aplicaciones dentales y ortopédicas (reemplazos articulares, medios de fijación para fracturas, reparación de defectos óseos, tendones y ligamentos artificiales, fijación de piezas dentales) y entre los segundos se encuentran los de uso cardiovascular (catéteres, válvulas cardíacas y prótesis vasculares), diseño de órganos (corazón y riñón artificiales, regeneradores de piel, máquina corazón-pulmón); sin embargo, esta división no es estricta (un corazón artificial contiene ambos tipos de materiales) y no hay un consenso para definir biomateriales duros y blandos (7).

## Propiedades generales que determinan las características de los biomateriales

Las propiedades de un material y su superficie pueden servir para anticipar su comportamiento in vivo y la biocompatibilidad del mismo. Las propiedades a las que con mayor frecuencia se hace referencia al describir las características de un biomaterial son:

*Biocompatibilidad.* El término biocompatibilidad es usado permanentemente en la ciencia de biomateriales como una

característica esencial que diferencia a estos de otros materiales, pero existe cierto grado de incertidumbre con relación a los mecanismos y/o fenómenos que deben ser incluidos en este concepto. La selección de los materiales usados en la primera generación de dispositivos para implantes (1940 a 1980), fabricados a partir de carbón natural, vanadio, acero inoxidable, platino, titanio y aleaciones de cobalto y cromo, fue hecha con base en los criterios de “no ser tóxicos, inmunogénicos, trombogénicos, carcinogénicos ni irritantes” surgiendo una noción de biocompatibilidad, por ausencia de ciertas propiedades (18).

El hecho de que un mismo material generara respuestas diferentes en un huésped si se colocaba en sitios diferentes, es decir, que la biocompatibilidad no dependiera exclusivamente de las características del material sino también de la situación en la que es usado y que a medida que se extendía su uso se observara que los resultados variaban si el material se utilizaba a corto o a largo plazo, llevó a que en 1987 se llegara a un primer consenso: “Biocompatibilidad se refiere a la habilidad de un material para generar una apropiada respuesta en el huésped en una situación específica” (19). Esta definición no representó un avance en el entendimiento del concepto ni de los mecanismos químicos, bioquímicos, fisiológicos y físicos que intervienen en la interacción entre biomateriales y tejidos, razón por la cual las investigaciones se dirigieron a estudiar, por un lado, las características de los biomateriales con mayor impacto en la respuesta del huésped (composición, estructura, morfología, cristalinidad, constante elástica, balance de agua, porosidad, características químicas, topográficas y eléctricas de la superficie, corrosión, degradación, toxicidad) y, por otra parte, los principales factores relacionados con la respuesta genérica del huésped hacia un biomaterial (interacción de macromoléculas con la superficie del material, generación de respuesta inmune, inflamatoria, mutagénica, genotóxica o carcinogénica y mantenimiento de un estado ‘estable’ entre huésped y biomaterial) (18).

Teniendo en cuenta las técnicas y materiales utilizados en ingeniería de tejidos, que combinan señales moleculares y mecánicas para estimular y controlar un grupo de células blanco, se hace necesario considerar la biocompatibilidad como “la habilidad que tiene un sustrato para dar un soporte adecuado a la actividad celular, incluyendo la facilitación de sistemas de señales para optimizar la regeneración tisular, sin producir una respuesta indeseable a nivel local o sistémico en un huésped eventual”. Finalmente, observando las aplicaciones aparecidas en los últimos años (dispositivos invasivos para uso quirúrgico en medicina regenerativa, liberación de medicamentos o genes y vehículos para diagnóstico e imagen, entre otros) y la necesidad no solo de evitar efectos negativos sino de potenciar los

beneficios de los biomateriales, se hace necesario redefinir la biocompatibilidad como la “habilidad de un biomaterial para llevar a cabo una función deseable con respecto a una terapia médica, sin producir efectos indeseables locales o sistémicos en el recipiente o beneficiario de esta terapia, generando una respuesta celular o tisular apropiadamente benéfica en una situación específica y optimizando el rendimiento clínicamente relevante para esa terapia” (13, 18). Es obvio que cualquier concepto emitido estará en permanente discusión y cambiará en la medida que se introduzcan nuevos biomateriales y nuevas aplicaciones.

*Microestructura.* Un material está constituido por una jerarquía de niveles de organización. El nivel atómico es responsable del tipo de uniones interatómicas que el material presente. En los sólidos cristalinos, como los metales, los átomos se organizan en un modelo esencialmente regular, los cristales, aunque la orientación de los mismos puede variar. Los cristales se unen unos con otros en diversas orientaciones formando granos que pueden estar fuertemente unidos entre sí. El tamaño de grano es una característica importante: mediante técnicas de ‘ataque’ (etching) se ha observado que las muestras de un mismo material con granos finos son más fuertes, resistentes y uniformes si se comparan con las de un tamaño de grano mayor. Cuando un material es puro, los cristales formados son similares y solo varían en su orientación formando granos similares; se dice entonces que el material se encuentra en una fase. En la mayoría de los materiales para implantes, coexisten dos o más fases. Los sólidos amorfos presentan un orden pobre o de corto alcance, sin la simetría ni la regularidad de los sólidos cristalinos (20, 21).

*Resistencia a la corrosión.* En los biomateriales metálicos, la corrosión ocurre cuando reacciones electroquímicas se realizan sobre su superficie si esta es expuesta a un medio electrolítico acuoso. Existen dos tipos de reacciones: en la reacción anódica se ceden iones, por ejemplo, la oxidación de un metal a su sal, y la reacción catódica, en la cual los electrones generados son consumidos, como en la reducción del hidrógeno. En el proceso de corrosión, la rata de reacción anódica u oxidación es igual a la rata de reacción catódica o reducción. La resistencia a la corrosión es evaluada con el potencial denominado “serie electroquímica” cuyas unidades se dan en voltios. Los metales nobles —oro, platino, plata— tienen series electroquímicas altas —1,43, 1,2 y 0,79 respectivamente— y son altamente resistentes a la corrosión; por su costo y propiedades mecánicas no son utilizados en aplicaciones estructurales. La mayoría de las aleaciones utilizadas en la clínica contienen metales reactivos como el titanio, el aluminio o el cromo cuyas series electroquímicas son -1,63, -1,33 y -0,73 respectivamente. Por su alta reactivi-

vidad, reaccionan con el oxígeno cuando son expuestos a la atmósfera. Esta reacción inicial, deja una capa de óxido firmemente adherida sobre la superficie del metal que actúa como barrera protectora del metal subyacente. Varios tratamientos a la superficie pueden realizarse para disminuir la corrosión de metales reactivos (7, 20).

*Resistencia a la compresión y a la tensión.* Es difícil comparar la deformación ante una fuerza tensil en materiales de diferente composición y forma. Para facilitar esto, la deformación y la carga han sido normalizadas. De esta manera, el esfuerzo se define como la carga (fuerza) por unidad de área  $\sigma = F/A$  o si un peso es utilizado  $\sigma = N/m^2$ , unidad conocida como Pascal (Pa), la cual determina la compresión a la que puede ser sometido un material. La tensión es la fuerza media de tracción uniaxial por unidad de área, con idénticas unidades. La deformación es la elongación por unidad de longitud original sobre la cual la extensión ocurre  $e = \Delta l/l_0$ , lo cual determina la tensión a la que puede ser sometido un material. Estas características diferencian los materiales flexibles como la goma, polímeros y otros materiales suaves, de los materiales rígidos como metales, cerámicas y hueso, donde las desviaciones son tan pequeñas que requieren métodos de medición sensibles (figura 1). Otro tipo de deformación es la relacionada con tensión de cizalladura  $\tau = F/A$  (figura 2). Las unidades para la tensión de cizalladura son las mismas que para la tensión de tracción uniaxial (Pascuales). La deformación de cizalladura  $\gamma = \Delta l/l$  determina la tensión de cizalladura a la que puede ser sometido un material (7, 20, 22).

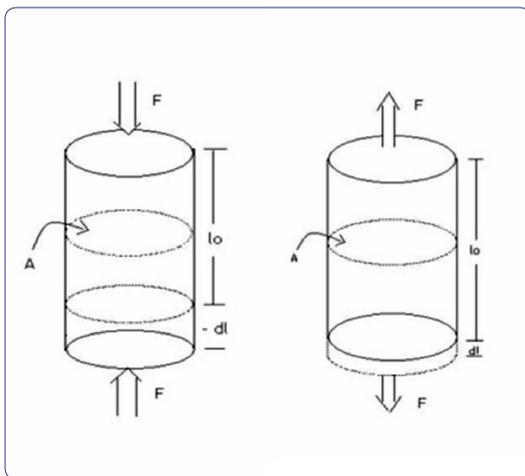


Figura 1. Fuerzas de compresión y tensión.

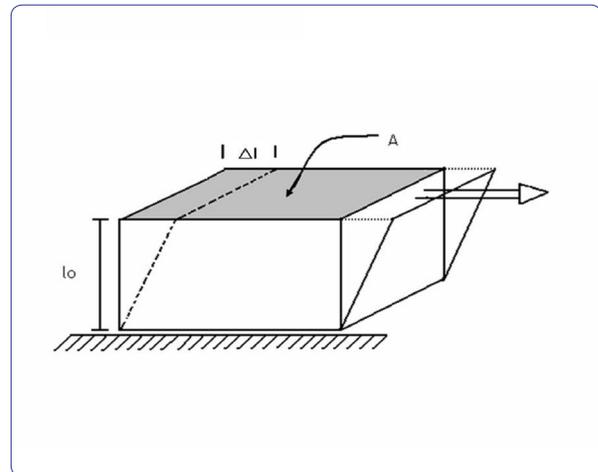


Figura 2. Fuerza de tensión de cizalladura.

*Deformación elástica y plástica.* Cuando un material es sometido a una fuerza de tracción en una dirección se produce su deformación. De acuerdo a la ley de Hooke, un material sólido sometido a una fuerza tensil se extiende en dirección de la tracción de manera proporcional a la carga, hasta cierto límite. Si el material recupera sus dimensiones originales cuando la fuerza es eliminada, se dice que ha sufrido una deformación elástica. Si el material se deforma de tal manera que no recupera sus dimensiones originales al ser eliminada la fuerza, se dice que ha sufrido una deformación plástica. El máximo esfuerzo que un material puede soportar antes de quedar permanentemente deformado se denomina límite de elasticidad. Cuando un metal es sometido a una deformación longitudinal elástica, se produce también un cambio en las dimensiones laterales (contracción). Si el material presenta propiedades idénticas en cualquier dirección en que sean medidas, la relación entre la deformación lateral y la deformación longitudinal se conoce como coeficiente de Poisson. La deformación plástica (plástodeformación) es, entonces, una deformación permanente y gradual causada por una fuerza continuada sobre un material. En muchos casos esta deformación lenta cesa porque la fuerza que la produce desaparece a causa de la propia deformación. Cuando la plástodeformación se prolonga durante mucho tiempo el material acaba rompiéndose. Cuando la deformación plástica comienza, la deformación producida es superior a la deformación elástica; no es necesariamente proporcional al esfuerzo y no hay recuperación cuando este cesa ya que los cristales adoptan una nueva localización de manera irreversible. La verdadera plástodeformación solo es posible en materiales cuyos átomos están unidos por enlaces metálicos y

es también llamada ductilidad o maleabilidad. En los metales, la plastodeformación se favorece disminuyendo el tamaño de grano, especialmente en multifases, incrementando la fuerza del material (7, 20, 22).

*Constantes elásticas.* Usando las definiciones de esfuerzo y tensión, la ley de Hooke cambia su expresión:  $\sigma = E\varepsilon$  y  $\tau = G\gamma$ . E y G son constantes y representan propiedades inherentes del material y una manifestación de la fuerza entre los enlaces interatómicos. E es el módulo elástico (módulo de Young) y muestra la relación entre tensión y deformación:  $E = \sigma/\varepsilon$ . Cuando se aplica una fuerza externa que crea una tensión en el interior del material, las distancias moleculares cambian y el material se deforma. Si las moléculas están firmemente unidas entre sí, la deformación no será muy grande incluso con un esfuerzo elevado. En cambio, si las moléculas están poco unidas, una tensión relativamente pequeña causará una deformación grande. Por debajo del límite de elasticidad, cuando se deja de aplicar la fuerza las moléculas vuelven a su posición de equilibrio y el material elástico recupera su forma original. Más allá del límite de elasticidad, la fuerza aplicada separa tanto las moléculas que no pueden volver a su posición de partida que el material queda permanentemente deformado o se rompe. Entonces, en materiales con enlaces fuertes (como el diamante, tungsteno y  $Al_2O_3$ ) el módulo es alto y a un esfuerzo dado se produce solo una pequeña deformación, mientras que en materiales con enlaces débiles (como el oro y la mayoría de los polímeros) el módulo es más bajo. G es el módulo de rigidez para esfuerzos cortantes (de cizalladura) (figura 3) (7, 20, 22).

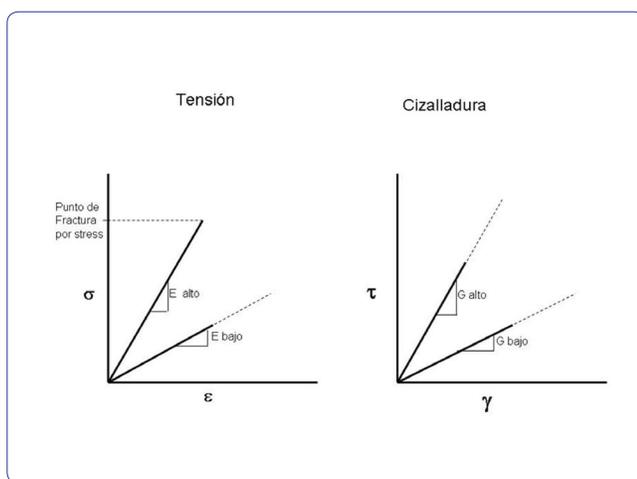


Figura 3. Módulo elástico E (relación entre tensión y deformación) y módulo de rigidez G para esfuerzos cortantes (en cizalladura).

*Isotropía.* Un material es isotrópico cuando sus propiedades son iguales en todas las direcciones. Las constantes E y G son necesarias para caracterizar la rigidez de un material isotrópico. En los materiales anisotrópicos la rigidez varía según la orientación en que sea aplicada una fuerza. Por ejemplo, en un ligamento hay múltiples fibras de colágeno en diferentes direcciones y estas pueden ser más fuertes si una fuerza se aplica longitudinal que si se aplica transversalmente; en este caso, varias constantes elásticas son necesarias para relacionar esfuerzo y deformación. En la mayoría de las aplicaciones de las aleaciones no es preciso tener en cuenta el hecho de que tanto las propiedades elásticas como las plásticas están determinadas por el comportamiento de muchos granos individuales, cada uno de los cuales es anisótropo. Las aleaciones corrientes están constituidas por millones de pequeños cristales y, si están orientados al azar, las propiedades medias son las mismas en todas las direcciones. Sin embargo, como resultado de los procesos de colada, laminado o tratamientos térmicos, es posible que los granos de una barra policristalina adopten una orientación casi idéntica en cuyo caso la barra presentará un comportamiento anisótropo que, por ejemplo, puede hacer aumentar en gran medida su rigidez en una dirección (7).

*Dureza.* Es la habilidad de un material para deformarse plásticamente bajo la influencia de un campo de esfuerzo complejo hasta un límite, antes de producir una fisura. La energía absorbida durante el impacto es una medida de esta característica. Si la deformación plástica no ocurre, para determinar la dureza se considera el esfuerzo a partir del cual se propaga una fisura. En ambos casos este punto se denomina “factor de intensidad de esfuerzo” ( $K_{Ic} = Pa \cdot m^{-1/2} = N \cdot m^{3/2}$ ) y es un parámetro de la dureza a la aparición de fisuras y su propagación (7, 20).

*Fragilidad de fractura.* En los materiales reales la elasticidad no persiste indefinidamente. Si un material es sometido a una tensión creciente, este fallará por la presencia de defectos microscópicos que comienzan a crecer rápidamente hasta producirse una fractura. En la curva esfuerzo-deformación, el sitio donde la falla ocurre se denomina punto de fractura por estrés. Este comportamiento es típico de muchos materiales incluyendo vidrios, cerámicas, grafito, aleaciones duras y algunos polímeros como el poli(metilmacrilato). El número y el tamaño de los poros o de defectos del material son unas de las características microestructurales que más influyen en la fragilidad de un material (7, 20, 22).

*Fatiga.* Se produce cuando un material es sometido a una carga que es aplicada y removida por un número grande de ciclos, tal como ocurre en las prótesis articulares y las válvulas

cardiacas. Aunque el esfuerzo máximo nunca supere el límite elástico, se producen microfisuras que se propagan en cada ciclo hasta que la superficie eficaz no puede soportar el esfuerzo máximo de la fuerza cíclica. En algunos metales, como las aleaciones de titanio, puede evitarse la fatiga manteniendo la fuerza cíclica por debajo de un nivel determinado. De manera convencional, el esfuerzo que provee una baja probabilidad de falla después de un número de ciclos es considerado punto de fatiga o resistencia límite del material. Este límite se evalúa generalmente en número de ciclos cercano a 106 a 108 (7, 20, 22).

## Nueva generación de biomateriales

Existen varias tendencias para clasificar los biomateriales. Tradicionalmente, los materiales se han dividido en tres clases —metálicos, poliméricos y cerámicos— de acuerdo al tipo de enlace —iónico, covalente o metálico— que presenten los átomos que los constituyen. Los materiales metálicos tienen una estructura cristalina en la que los átomos están dispuestos de manera ordenada. En general, son buenos conductores térmicos y eléctricos, relativamente resistentes y dúctiles a la temperatura ambiente y presentan alta resistencia, incluso a temperaturas elevadas. Los materiales poliméricos constan de largas cadenas o redes moleculares que frecuentemente se basan en compuestos orgánicos. Desde el punto de vista estructural, la mayoría no son cristalinos. En general son malos conductores eléctricos, tienen bajas densidades y temperaturas de ablandamiento o de descomposición relativamente bajas. Los materiales cerámicos son materiales inorgánicos formados por elementos metálicos y no metálicos enlazados químicamente entre sí. Pueden ser cristalinos, no cristalinos o mezclas de ambos. Tienen gran dureza y resistencia a las altas temperaturas pero tienden a ser frágiles (con poca o nula deformación antes de la fractura). La mayoría de los biomateriales son materiales compuestos, en los que una o más fases o constituyentes se han integrado para formar un material nuevo. Los constituyentes conservan sus propiedades y el nuevo compuesto tendrá propiedades distintas a las de cada uno de ellos. Desde el punto de vista fisiológico, en algunas situaciones los biomateriales se dividen según la respuesta general del tejido al implante: los materiales tóxicos provocan necrosis del tejido circundante; los materiales inertes no reaccionan químicamente con las macromoléculas del huésped, el cual forma un tejido fibroso de espesor variable alrededor del implante; los materiales biotolerables provocan una respuesta a distancia y los materiales bioactivos son aquellos capaces de establecer interacciones químicas y físicas con el tejido y promover su regeneración. Sin embargo, el hecho de que la mayoría de los dispositivos no están formados por un material

único y de que la ciencia de materiales se ha integrado con los avances en ingeniería de tejidos plantea la necesidad de hablar de una nueva generación de biomateriales cuyo principal objetivo es no solo disminuir la posibilidad de efectos indeseables locales o sistémicos, sino generar una respuesta celular apropiada, dirigir la regeneración y crecimiento tisular y permitir el adecuado transporte de nutrientes, factores de crecimiento y agentes terapéuticos.

### Biomateriales con modificaciones en su superficie

Las características químicas y topográficas de la superficie de un biomaterial son uno de los parámetros más importantes en las interacciones huésped-biomaterial. Sin embargo, la respuesta es independiente de la simple idea de las características químicas. Aunque metales, cerámicas y polímeros exhiben diferentes propiedades de superficie, la respuesta inicial a ellos in vivo es idéntica: adsorción no específica de proteínas en la superficie después de la cual una cascada de eventos intracelulares es estimulada. Las investigaciones se han centrado en controlar, mediante señales moleculares, este fenómeno pues se considera crítico para dirigir la respuesta celular hacia los biomateriales.

*Superficies resistentes a la adsorción de proteínas* (nonfouling surfaces). El poli(etilenglicol) (PEG) ha sido estudiado por su resistencia a proteínas y células. Por esta propiedad se ha planteado su posible uso como recubrimiento de materiales convencionales. Ensayos in vitro en los que el PEG se utilizó para recubrir la superficie de láminas de oro y titanio mostraron disminución franca de la adsorción de proteínas y resistencia a la adhesión celular de plaquetas y monocitos. Sin embargo, un ensayo in vivo en el que un derivado del PEG fue colocado en el dorso de ratones mostró, de manera paradójica, encapsulación fibrosa y mayor adhesión de macrófagos, lo cual demuestra la diferencia de la respuesta al mismo material in vitro e in vivo y la necesidad de modelos que simulen la complejidad de los ambientes biológicos (23).

*Especificidad de la superficie.* La adhesión celular que sigue a la adsorción de proteínas es mediada por moléculas de adhesión celular como las integrinas. Para controlar y dirigir la respuesta celular hacia el biomaterial se ha considerado la idea de recubrirlo con pequeños oligopéptidos o, incluso, proteínas completas. Se han utilizado secuencias de pequeños oligopéptidos, presentes en proteínas de la matriz extracelular, que actúan como dominios de unión a moléculas de adhesión celular. El más estudiado es el oligopéptido arginina-glicina-ácido aspártico (RGD, por sus siglas en inglés), el cual se encuentra en varias proteínas de la matriz extracelular como fibronectina, laminina, colágeno y vitronectina. El RGD ha sido aplicado a diferentes superficies con el objeto de favorecer la unión de las moléculas de adhesión

celular a la superficie del biomaterial y mejorar así su bioactividad. En la combinación de PEG (99%) y RGD (1%), la adsorción de proteínas fue mínima, pero había un número suficiente de sitios RGD como para promover la adhesión de fibroblastos a la superficie, siendo esta mayor cuando la conformación de RGD es cíclica que cuando es lineal. La osteopontina es una proteína de gran interés por su rol en la cicatrización y regeneración. Cuando el poli(2-hidroxietil metacrilato) (pHEMA) fue recubierto con colágeno tipo I y osteopontina se presentó un incremento importante en la adhesión de células endoteliales, las cuales producen diversos factores de crecimiento y son el sustrato morfológico de la vasculogénesis, necesario para la curación de un tejido después de una lesión, como puede ser la colocación del implante mismo (23, 24, 25). Frente a la controversia generada en torno al uso de stent para angioplastia coronaria por la incidencia significativa de reestenosis y trombosis, especialmente al suspender la terapia antiplaquetaria (26, 27, 28), se encuentran en investigación cubiertas de biomateriales nanotexturizados que promueven en el stent la adherencia y proliferación de células musculares lisas y endoteliales, disminuyendo así los riesgos mencionados. Además, debido a su porosidad son candidatos potenciales para ser almacenadores y liberadores de medicamentos (29, 30). Se ha ensayado la encapsulación de nanopartículas con medicamentos para ser liberados mediante cateterismo, logrando altas concentraciones de los mismos a nivel de la pared arterial con un incremento de la vida media y bajos niveles plasmáticos, lo cual disminuye la posibilidad de efectos sistémicos. Es así como nanopartículas con dexamentasona, utilizadas en modelos con perros, permanecieron siete días en las tres capas de la arteria femoral y hasta 14 días en la adventicia (29). Además del medicamento, a las nanopartículas pueden añadirse anticuerpos que se ligan específicamente a la fibrina de los trombos, factores titulares o a glicoproteínas que se incrementan después de la injuria vascular, para lograr una concentración alta y sostenida del medicamento justo en los sitios donde se requiere prevenir la reestenosis sin la necesidad de utilizar el balón de angioplastia para llegar al sitio comprometido (29, 30, 31).

*Biomateriales con modificación en la microarquitectura de superficie.* La microarquitectura de la superficie de un biomaterial es uno de los factores más importantes en la respuesta del huésped al mismo. Los implantes no porosos estimulan el desarrollo de cápsulas fibrosas muy densas, mientras que ante la presencia de poros en la superficie las cápsulas —laxas, abiertas y desorganizadas— exhiben un aumento en la vascularización permitiendo la difusión de moléculas al implante. El efecto es mayor si se controlan tamaño, forma y uniformidad de los poros, aunque solo hay estudios preliminares (6).

## Hidrogeles

Son redes de polímeros entrecruzados que, aunque insolubles, forman un medio acuoso muy similar al de los tejidos biológicos; por esta razón, son excelentes candidatos para matrices (scaolds) en ingeniería de tejidos y sistemas liberadores de medicamentos. El poli(etilenglicol)-co-poli(ácido láctico) (PEG-co-PLA), el poli(vinilalcohol) (PVA), el PVA-g-PLA, el ácido hialurónico y el condroitinsulfato han sido modificados con metacrilatos para formar macrómeros entrecruzados constituyentes de hidrogeles que han sido utilizados como scaolds de células pancreáticas, musculares lisas, osteoblastos y condrocitos, así como liberadores de factores de crecimiento para promover la mineralización en tejido óseo. Hidrogeles basados en PEG y PVA se han utilizado ‘programando’ su tasa de degradación con la producción de MEC en ingeniería de tejidos con condrocitos. Una nueva clase de hidrogeles que involucra la interacción de PVA y aminoácidos con microespumas que contienen una distribución uniforme de burbujas forman ‘poros’ de 50 a 500 micras ha resultado ventajosa como matriz especialmente por incluir componentes aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) (6, 23, 25, 32, 33).

## Biomateriales que responden a cambios en su ambiente

La posibilidad de un biomaterial de responder a los cambios en el entorno resulta atractiva, especialmente in vivo, por ejemplo, para liberar medicamentos o modificar la adhesión celular bajo ciertas condiciones fisiológicas. Los estímulos a los que responde el biomaterial son diversos. Se han desarrollado hidrogeles liberadores de medicamentos por combinación de poli(ácido metacrílico) y poli(etilenglicol) (PMAA-g-PEG) que responden a cambios en el pH; a pH menores a 2 el hidrogel se encuentra “encojido” y a pH fisiológico, cercano a 7,4, el gel se “expande”, liberando el medicamento que transporta. In vitro, tiene baja toxicidad y atraviesa cultivos de células epiteliales en monocapa. In vivo, se ha administrado por vía oral insulina unida a geles de PMAA-g-PEG a ratones diabéticos, con disminución significativa de la glicemia, sugiriendo que el gel protege a la insulina de cambios ante el pH gástrico y la acción de enzimas. Otro problema que se ha pretendido resolver es la degradación lisosomal de medicamentos que son captados por la célula. Cuando una sustancia es internalizada por la célula, es ‘atrapada’ por endosomas y transportada a lisosomas para su degradación enzimática. Polímeros transportadores y liberadores de medicamentos se han diseñado a partir de una columna de demetilaminoetil metacrilato, butil metacrilato y derivados del estireno. Esta columna es recubierta por PEG al cual se le han incorporado múltiples sitios de unión para sustancias capaces de producir ruptura de la membrana lisosomal, para el medicamento y ligandos para unirse a la membrana plasmática de células específicas.

El polímero es captado mediante el proceso de endocitosis mediada por receptores y se conserva estable a pH fisiológico (citoplasmático), pero al entrar al lisosoma, el cambio a pH ácido (5,0 a 6,0) produce hidrólisis que libera el disruptor de la membrana lisosomal y el medicamento antes de que este sea degradado. También se están desarrollando biomateriales poliméricos que responden a cambios de temperatura. Los polímeros se encuentran en solución a cierta temperatura (LCST: *polymer lower critical solution temperature*); cuando esta cambia se presentan cambios conformacionales en sus fases hidrofóbica e hidrofílica. El péptido similar a la elastina y la poli(N-isopropilacrilamida) se han utilizado en ingeniería de tejidos y transporte de medicamentos. A 32°C las células cultivadas sobre la superficie de estos materiales pueden ser desprendidas fácilmente, pero a 37°C las superficies se tornan hidrofílicas, promoviendo la adsorción de proteínas y la adhesión celular no solo al biomaterial, sino célula-célula y célula-MEC (6, 23, 32).

### **Materiales inspirados en la biología**

*Biomateriales autoensamblables.* Se diseñan imitando la capacidad natural de las moléculas de autoorganizarse en niveles jerárquicos estructurales; por ejemplo, polímeros de aminoácidos pueden ser sintetizados con múltiples regiones activas para que bajo ciertas condiciones se autoensamblen en hidrogeles macroscópicos y, así, a partir de una molécula es posible diseñar una matriz tridimensional para ser utilizada en ingeniería de tejidos con las ventajas de ser reconocidos por el entorno in vivo y cuando son degradados, utilizar sus componentes esenciales (24). Investigaciones en las cuales se usaron hámsteres sometidos a diferentes procedimientos quirúrgicos a nivel cerebral, hepático y de extremidades mostraron que el uso de una solución hemostática hecha de aminoácidos que se autoensamblaban en una matriz peptídica daba como resultado la formación de una barrera de nanofibras (diámetro inferior a 100 nm) que no solo detenía el sangrado, sino que posteriormente favorecía el proceso de reparación de las áreas adyacentes cuando el material era fragmentado en sus unidades básicas (L-aminoácidos naturales) que eran incorporadas al tejido y a la matriz extracelular. Después de la injuria cerebral, por ejemplo, se logró la hemostasia en menos de 10 segundos y se facilitó la regeneración neuronal y la migración celular al sitio de la injuria. Ensayos in vitro que combinaron dos oligopéptidos autoensamblables mostraron el desarrollo de una matriz estructural de nanofibras que permitieron el soporte y adhesión de varios tipos celulares, la diferenciación de células a partir de sus precursores y el crecimiento de fibras nerviosas (34, 35, 36).

Biomateriales biomiméticos. Los tejidos normales tienen una compleja estructura tridimensional. Las primeras

aproximaciones para imitar la MEC y la arquitectura de los tejidos se hizo incorporando oligopéptidos en materiales sintéticos para hacerlos bioactivos. En ensayos con geles fabricados como matrices (denominadas andamios o scaolds en el contexto de la ingeniería de tejidos) para contener metaloproteinasa (MMP) y proteína morfogénica ósea tipo 2 mostraron un gran infiltrado de células óseas y regeneración del tejido. También se ha investigado sobre materiales que imiten la acción de la hidroxiapatita en la formación ósea, como el nácar, material presente en la conchas marinas (23). Los avances en biología han aportado un gran conocimiento en los componentes moleculares de la MEC y sus interacciones. Como los tejidos tienen múltiples componentes con múltiples funciones, cuando se diseñan matrices los biomateriales tratan de reemplazar una de las funciones predominantes. El proceso natural de reparación tisular involucra, a su vez, múltiples señales moleculares tiempo y gradiente de concentración dependientes. En el caso de la ingeniería para el tejido óseo, la atención se había focalizado hacia el diseño de matrices ‘formadoras de hueso’, pero la viabilidad de las mismas se vio limitada por la vascularización, razón por la cual el interés actual se concentra en el desarrollo de no solo el tejido óseo, sino en una red vascular apropiada. La estrategia utilizada es la combinación de biomateriales cuyas propiedades intrínsecas estimulen la formación de un tejido específico dentro de un constructo en multifase. Por ejemplo, un compuesto de ácido poliláctico/hidroxiapatita (PA/HA) fue desarrollado después de un diseño basado en imágenes. En matrices 2D y 3D también se ha utilizado como fuente única células madre mesenquimales cuya diferenciación a cartílago o hueso es promovida gracias a la incorporación de factores de crecimiento específicos. Matrices 3D han sido utilizadas en la reparación de defectos osteocondrales usando una combinación de fosfato de calcio (material cerámico) junto con PEG y poli(butilentereftalato) (PBT) (materiales poliméricos). Este material ha mostrado buenos resultados en términos de las propiedades mecánicas para aplicaciones en reparación de cartílago y adhesión celular en reparación ósea. La estructura porosa fue obtenida por técnicas de deposición de fibras. La incorporación de diferentes señales moleculares ha sido estudiada procurando la formación ósea y la neovascularización. A matrices porosas fabricadas con PEG-co-PLA, en las que se sembraron células madre mesenquimales, les fue incorporada en su superficie una combinación de VEGF y un factor osteogénico (plásmido que codifica para BMP-4), evidenciándose in vivo un incremento significativo en la regeneración ósea y en la formación de vasos sanguíneos. En este estudio no fue claro el mecanismo de conexión entre los vasos de la matriz y la vasculatura del huésped (37, 38, 39, 40, 41).

*Tejidos acelulares.* Materiales derivados de tejidos naturales en los cuales se han removido las células para reducir la respuesta inmune son comparables a la MEC en sus propiedades mecánicas y biológicas, razón por la cual se están investigando como biomateriales. La submucosa acelular de intestino delgado de porcino (SIS) ha sido ampliamente estudiada en ingeniería de tejidos como matriz que conserva no solo sus proteínas, sino también citoquinas y factores de crecimiento que mantienen la habilidad para la reparación y crecimiento celular sin estimular la respuesta inmunológica por parte del huésped. Por ello, su uso en humanos ha sido aprobado por la FDA para reparación de piel, tejidos blandos de soporte y estructuras del manguito rotador en la articulación del hombro (6, 23).

## Bibliografía

- Ministerio de la Protección Social. República de Colombia. Decreto 3039: Plan Nacional de Salud 2007-2010. 2007.
- Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Logia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants. A review. *Progress in Materials Science* 2009; 54: 397-425.
- Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Borsari V, Giardino R, Nicolini A, Carpi A. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomed Pharmacother* 2004; 54: 487-93.
- Webster TJ. *Advances in chemical engineering. Nanostructured materials.* California, Estados Unidos: Academic Press; 2001.
- Zhang L, Webster T. Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration. *Nanotoday* 2009; 4: 66-80.
- Vo-Dinh T. *Nanotechnology in biology and medicine.* Durham, Estados Unidos: CRC Press; 2007. p. 2.1-2.17.
- Ratner BD, Hoffman A, Schoen F, Lemons J. *Biomaterial science: an introduction to materials in medicine.* Elsevier Academic press; 2004.
- Scott M. 32.000 years of sutures. *NatNews1* 1983; 20(5): 15-7.
- De Hecht. Kennewick man led a rough life. *New Science* 2006; 169(2541):10
- Puigbó JJ. El papiro de Edwin Smith y la civilización egipcia. *Gac med Caracas* 2002; 110; 378-85.
- Nerlich AG, Zink A, Szeimies U, Hagedorn H. Ancient Egyptian prosthesis of the big toe. *Lancet* 2000; 356: 2176-9.
- Williams DF. *Definitions in biomaterials.* Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England. Vol. 4. New York: Elsevier; 1986.
- Leeuwenburgh SC, Jansen JA, Malda J, Dhert WA, Rouwkema J, van Blitterswijk CA, Kirkpatrick CJ, Williams DF. Trends in biomaterials research: An analysis of the scientific program of the World Biomaterials Congress 2008. Editorial. *Biomaterials* 2008; 29: 3047-52.
- Williams DF. Second consensus conference on definitions in biomaterials. Chester, England. *Advances in biomaterials* 1992; 2: 10.
- Williams DF. *The Williams dictionary of biomaterials.* Liverpool: Liverpool University Press; 1999.
- Mason C, Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. *Regen Med* 2008; 3: 1-5.
- Engel E, Michiardi A, Navarro M, Lacroix D, Planell JA. Nanotechnology in regenerative medicine: the materials side. *Trends in Biotechnology* 2008; 26: 39-47.
- Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* 2008; 29: 2941-53.
- Williams DF. *Definitions in biomaterials.* Amsterdam: Elsevier; 1987.
- Smith WF, Hashemi J. *Fundamentos de la ciencia e ingeniería de materiales.* 4ª ed. México: McGraw Hill; 2007.
- De Saja JA, Rodríguez MA. *Materiales: estructura, propiedades y aplicaciones.* Cengage Learning; 2005.
- Beer F. *Mecánica de materiales.* 4ª ed. McGraw Hill; 2007.
- Ratner BD. Biomaterials: where we have been and where we are going? *Annu Rev Biomed Eng* 2004; 6: 41-75.
- Petrie T, Raynor J, Reyes C, Burns K, Collard D, García A. The effect of integrin-specific bioactive coatings on tissue healing and implant osseointegration. *Biomaterials* 2008; 29: 2849-57.
- Wei C. Genetic nanomedicine and tissue engineering. *Med Clin North Am* 2007; 1: 889-98.
- Schuchman M. Trading restenosis for thrombosis? New questions about drug-eluting stents. *N Engl J Med* 2006; 355: 1949-52.
- Schuchman M. Debating the risk of drug-eluting stents. *N Engl J Med* 2007; 356: 325.
- Maisel W. Unanswered questions drug-eluting stents and the risk of late thrombosis. *N Engl J Med* 2007; 356: 981-4.
- Caves J, Chaikof E. The evolving impact of microfabrication and nanotechnology on stent design. *J Vasc Surg* 2006; 44: 136-8.
- Miller DC, Thapa A, Habertroh KM, Welter TJ. Endothelial and vascular smooth muscle cell function on poly(lactic-co-glycolic acid) with nano-structured surface features. *Biomaterials* 2004; 25: 53-61.
- Lanza GM, Yu X, Winter PM, Abendschein DR, Karukstis KK, Scott MJ, et al. Targeted antiproliferative drugs delivery to vascular smooth muscle cells with a magnetic resonance imaging nanoparticle contrast agent: implications for rational therapy of restenosis. *Circulation* 2002; 106: 2842-7.
- Gogotsi Y. *Nanomaterial handbook.* CRC Taylor & Francis; 2006. p. 605-36.
- Stevens M. Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials Today* 2008; 11: 18-25.
- Homan M. The cellular basis of traumatic bleeding. *Mil Med* 2004; 169: 5-7.
- Rutledge G, Yu-Xiang L, David KC, David KC, Phillis WF, Gerald ES, et al. Nano hemostat solution: immediate hemostasis at the nanoscale. *Nanomed* 2006; 2: 207-15.
- Ellis-Behnke RG, Liang YX, You SW, Tay DK, Zhang S, So KF, et al. Nano neuro knitting: peptide nanofiber scaffold for brain repair and axon regeneration with functional return of vision. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 5054-9.
- Barrere F. Advance biomaterials for skeletal tissue regeneration: instructive and smart functions. *Material Science and Engineering* 2008; 59: 38-71.
- Williams D. On the nature of biomaterials. *Biomaterials* 2009; 30: 5897-909.
- Liu H, Webster TJ. Nanomedicine for implants: a review of studies and necessary experimental tools. *Biomaterials* 2007; 28: 354-69.
- Rivron N. Tissue assembly and organization: developmental mechanisms in microfabricated tissues. *Biomaterials* 2009; 30: 4851-8.
- Clavijo D. Nanotecnología y salud: las dos caras de un viaje fantástico, en unos cuantos para todo. *Física cuántica: ¿virtualidad o realidad?* Ediciones Buinaima; 2009. p. 237-53.