NÚMERO 40 | enero-junio 2024
ISSN: En trámite
Pag. 64-70

Hidrogeles en ingeniería de tejidos

Israel Alfonso Núñez Tapia[1], Ricardo Mercurio Jiménez Jiménez[1], María Cristina Piña Barba[1]
1 Instituto de Investigaciones en Materiales, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, 04510, CDMX, México
isrant@comunidad.unam.mx

Introducción

Uno de los múltiples objetivos de la ingeniería de tejidos es generar andamios (*Scaffolds*) funcionales, capaces de mantener o restaurar las funciones de un tejido u órgano dañado. Para tal fin hace uso de biomateriales, células y, en algunos casos, moléculas con actividad biológica[3].

Las aplicaciones de la ingeniería de tejidos no están limitadas a la regeneración y reparación, pues sus principios son utilizados en la liberación de fármacos, biosensores, sistemas (*Organs-on-chips*) y para probar la toxicidad de fármacos experimentales[5].

El proceso de construcción de un andamio puede iniciar con la utilización de un órgano ya existente, al cual se le retiran las células y se deja solamente la matriz extracelular (en la cual puede crecer un nuevo tejido con las células propias del paciente). Este proceso se denomina descelularización y recelularización de órganos y tejidos.

Otro enfoque en el desarrollo de andamios es mediante la selección de materiales adecuados, los cuales pueden ser naturales (colágenas, gelatinas, elastinas, quitosanos, entre otros) o de origen sintético (policaprolactona, ácido poliláctico, poli-ácido glicólico, por mencionar algunos), estos materiales pueden ser combinados o modificados químicamente para una mejor integración[3].

Existen diferentes métodos de procesamiento, como la liofilización, electrohilado, sol-gel y manufactura aditiva, y los andamios obtenidos pueden ser películas, membranas, aerogeles e hidrogeles. El presente trabajo se enfoca en una breve descripción de los hidrogeles, su obtención, modificación química y aplicación en la ingeniería de tejidos.

Keywords

Ingeniería de tejidos, andamios, hidrogeles

Hidrogeles

Los hidrogeles se encuentran formados por redes poliméricas que adoptan una estructura tridimensional y, debido a la presencia de grupos hidrófilos (-NH_2, -COOH, -OH, $CONH_2$, -SO_3H) pueden absorber grandes cantidades de agua. El primer hidrogel usado como biomaterial fue desarrolla-

do a partir del poli-2-hidroxietilmetacrilato (PHEMA), con el objetivo de ser usado como relleno ocular[1].

La clasificación más común de los hidrogeles depende de los materiales de partida (hidrogeles naturales, sintéticos e híbridos). Otras formas de clasificarlos son según el mecanismo de entrecruzamiento, las propiedades o carga iónica del hidrogel.

Dentro de los hidrogeles naturales encontramos a los formados por carbohidratos y proteínas (celulosa, quitosano, alginatos, fibrina, gelatina, ácido hialurónico, agarosa, colágena). Estos hidrogeles poseen biocompatibilidad, bioactividad y una adecuada biodegradabilidad, pero carecen de estabilidad mecánica y térmica.

Los hidrogeles sintéticos se encuentran formados por polímeros biocompatibles o bioinertes, como el alcohol polivinílico (PVA), polietilenglicol (PEG), poliacrilamida (PAAM), entre otros. Estos presentan mayor estabilidad térmica y mecánica, pero carecen de bioactividad.

Los hidrogeles híbridos están formados por entidades moleculares de origen orgánico e inorgánico[2], las cuales son seleccionadas de forma inteligente para aportar características únicas al hidrogel.

Otra forma de clasificar a los hidrogeles es mediante su cristalinidad; dentro de este grupo encontramos a los hidrogeles cristalinos que están formados por una red polimérica empaquetada con un orden de cristalización, los amorfos poseen estructuras aleatorias y los semicristalinos, que se obtienen mediante reticulación química y poseen regiones amorfas y cristalinas.

Los hidrogeles biocompatibles presentan respuesta a estímulos como el pH, fuerza iónica, respuesta ligando y enzima, entre otros. Debido a ello son considerados materiales inteligentes, todas estas propiedades de respuesta pueden ser moduladas con la adecuada selección de los componentes que formarán el hidrogel, la síntesis o el mecanismo de entrecruzamiento.

Síntesis de hidrogeles

Las propiedades químicas del hidrogel están determinadas en gran medida por la elección del polímero precursor. Esta decisión tendrá efecto en el método de obtención, la reticulación, la bioactividad, biodegradabilidad y biocompatibilidad. La reticulación del hidrogel puede ser física o química. La reticulación física, consiste en favorecer las interacciones entre cadenas poliméricas a través de interacciones débiles, injerto anfifílico, interacciones iónicas, etc.

Polímeros con grupos funcionales N-H, O-H y F-H; bajo ciertas condiciones de temperatura y pH, pueden formar hidrogeles a través de puentes de hidrógeno. Otra forma de ensamble se realiza mediante interacciones anfifílicas, que permiten autoensambles hidrofóbicos o hidrofílicos.

La formación de hidrogeles mediante interacciones iónicas (entre dos polielectrolitos con carga opuesta en una solución acuosa) es la más utilizada, en la formación de hidrogeles de alginatos, quitosanos y algunos polímeros de origen sintético[3].

Para mantener la estructura y propiedades del hidrogel formado mediante reticulación física son necesarias condiciones físicas que permitan la estabilidad termodinámica del

mismo, si existe una alteración en alguna de estas, el hidrogel pierde su estructura y propiedades.

Los procesos biológicos de reparación y regeneración de cada órgano y tejido son procesos dinámicos, donde participan diferentes enzimas, proteínas y cambios de pH. Esto modifica las condiciones termodinámicas y de equilibrio, afectando así a los hidrogeles reticulados de manera física. Para la reticulación química, es necesario conocer los grupos funcionales de los polímeros precursores del hidrogel, su afinidad, reactividad, generación de productos secundarios y condiciones de reacción. Los hidrogeles reticulados de manera química permiten la incorporación de moléculas bioactivas, células o ambas. Para ello, se hace uso de "enlazadores químicos" (*chemical linkers*) que propician la formación de enlaces cruzados.

Los agentes entrecruzantes (*Cross-linkers*) son moléculas pequeñas con, al menos, dos grupos funcionales reactivos que permiten la unión entre las cadenas poliméricas. Si la unión se realiza de manera directa, el agente entrecruzante se conoce como "de longitud cero". Un ejemplo es la utilización de las carbodiimidas, que crean un enlace tipo amida (enlace peptídico) entre los grupos amino y carboxílo[4] presentes en una proteína.

Dentro de los agentes de longitud no cero encontramos al glicolaldehído y gliceraldehído, que en combinación pueden modificar la microarquitectura de las fibras de los hidrogeles de colágena[5]. La reticulación con glutaraldehído puede producir citotoxicidad y una inducción a la calcificación de la colágena[6]. Otros agentes entrecruzantes como la genipina modifican la coloración de los hidrogeles de colágena[7].

La fotorreticulación de hidrogeles se realiza a velocidades de entrecruzamiento rápidas y temperatura ambiente, pero la exposición a luz ultravioleta puede inducir daños en el ADN y carcinogénesis celular[8]. El fotoiniciador tiene que ser biocompatible[9] y por lo general es de alto costo.

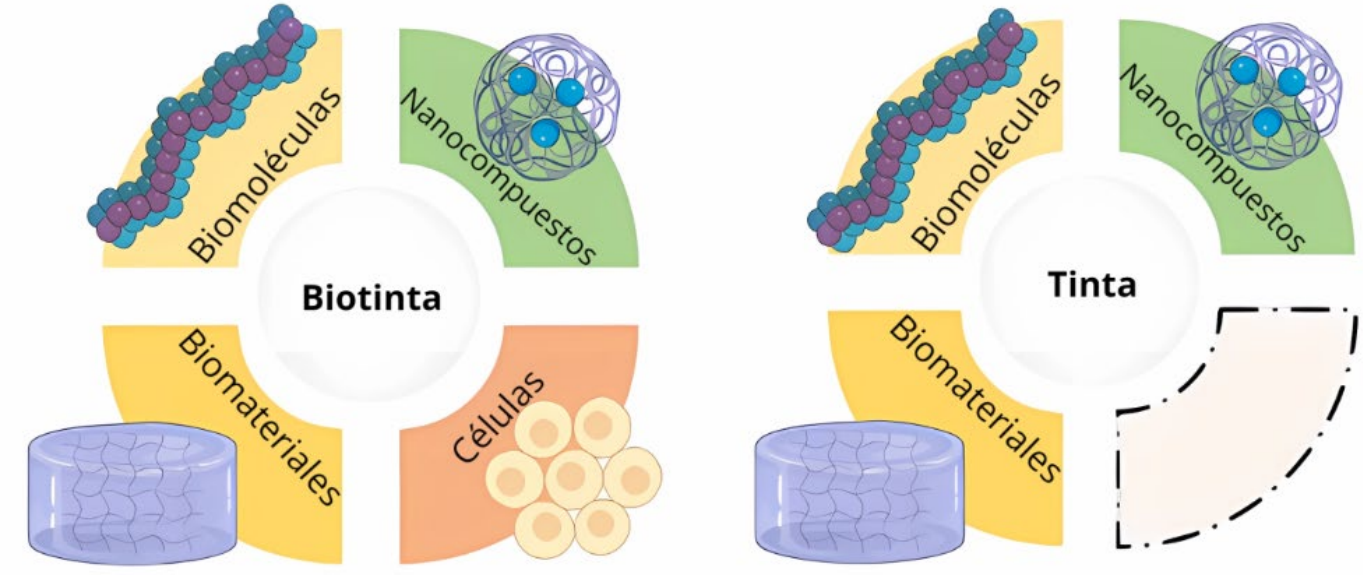

Figura 1. Diferencias entre una tinta y biotinta

Aplicaciones de los hidrogeles en ingeniería de tejidos

Manufactura aditiva

En la ingeniería de tejidos, los hidrogeles son de interés debido a la biocompatibilidad, biodegradabilidad y similitud con la matriz extracelular, por esta razón, un andamio elaborado con hidrogeles puede ser útil en la regeneración de tejidos, como el cartílago, hueso, venas, arterias, etc. El problema es encontrar las condiciones de manufactura adecuadas, los materiales a utilizar, el linaje celular, así como las condiciones mecánicas propias del tejido a imitar.

Haciendo una comparativa con el proceso de impresión tradicional o impresión offset en el cual se usan tintas, en la elaboración de andamios por manufactura aditiva (impresión 3D) los hidrogeles se pueden clasificar en dos grandes grupos: tintas (biotintas acelulares) y biotintas (biotintas celulares) (Figura 1). Si el hidrogel se encuentra formado por biomateriales micro y nanoestructurados, pero carece de células en el momento de la impresión 3D, estamos en presencia de una tinta.

Las tintas y biotintas actúan como soporte, brindando estabilidad mecánica y guía para el crecimiento celular, proporcionando el intercambio de moléculas biológicas activas como las citosinas y factores de crecimiento, que facilitan la formación de tejido nuevo.

Cultivo 3D

En su ambiente fisiológico, las células se encuentran rodeadas por una red de moléculas complejas llamada matriz extracelular (MEC), la cual difiere de órgano a órgano.

Hidrogel	*Ventajas*	*Desventajas*	*Aplicación en tejido*
Alginato	Viscosidad directamente proporcional a la concentración[10]. $CaCl_2$ no afecta la viabilidad celular[11]. Biocompatible con diferentes líneas celulares[12].	Baja proliferación celular[13]. Poca estabilidad mecánica en cultivos celulares prolongados[13].	Vascular. Articular. Óseo.
Gelatina	Buena viabilidad celular[14]. Forma parte de la matriz extracelular[15]. Fácil modificación química[16].	Baja estabilidad mecánica. Temperatura de fusión baja[17].	Hepático. Articular. Óseo.
Colágena	Alta viabilidad celular[18]. Forma la matriz extracelular[19]. Existen diferentes tipos de colágena adecuadas para cada tejido[20].	Baja estabilidad mecánica. Temperatura de desnaturalización variable[18].	Óseo. Articular. Piel. Venas. Arterias.
Ácido hialurónico	Forma parte de la matriz extracelular. Buena biocompatibilidad[22]. Alta bioactividad.	Alto costo[21]. Baja estabilidad mecánica. Baja temperatura de desnaturalización. Rápida biodegradabilidad[23].	Venas. Arterias. Articular.

Tabla 1. Algunos polímeros biocompatibles usados como tintas

Esta red proporciona estructura, soporte y comunicación con las células vecinas y participa en las interacciones bioquímicas. El ambiente celular al momento de probar un andamio para regeneración tisular puede ser de dos tipos: ensayo en cultivo 2D y en 3D. Si el ensayo se realiza en monocapa (cultivo 2D) las células son sembradas directamente en el material de estudio.

En el ensayo 3D, los precursores del hidrogel y el medio de cultivo (junto con las células) son dispersados en un plato de cultivo, y el proceso de gelificación ocurre a 37 °C. En comparación con el cultivo 2D, las células cultivadas en 3D presentan características similares a las de su ambiente fisiológico nativo. En la figura 2 se resumen algunas diferencias entre ambos tipos de ensayo.

El principal reto de los ensayos 3D es imitar la matriz extracelular (MEC), para esto, es necesario tener materiales biocompatibles que puedan ser termodinámicamente estables en las condiciones fisiológicas propias de la MEC del órgano a imitar, propiciando una adecuada velocidad de degradación, propiedades mecánicas y físicas similares.

Organoides

Los organoides son cultivos 3D de tejidos autoorganizados que se derivan de las células madre, estos sistemas miniaturizados y simplificados son usados para modelar órganos y tejidos en ambientes controlados[24]. Existen diferentes tipos de organoides, tantos como diversos tipos de órganos y tejidos forman el cuerpo humano. En la actualidad se han logrado replicar organoides que se asemejan al riñón, pulmón, intestino, estómago, hígado, páncreas, colon, esófago, oído, piel, corazón e incluso tumores.

Algunas de las aplicaciones de los organoides a escala in vitro e in vivo son la regeneración de órganos, como hígado y páncreas (en modelos murinos). También son usados en el estudio de nuevos tratamientos, liberación de fármacos, biomarcadores e investigación de las interacciones patógeno-huésped.

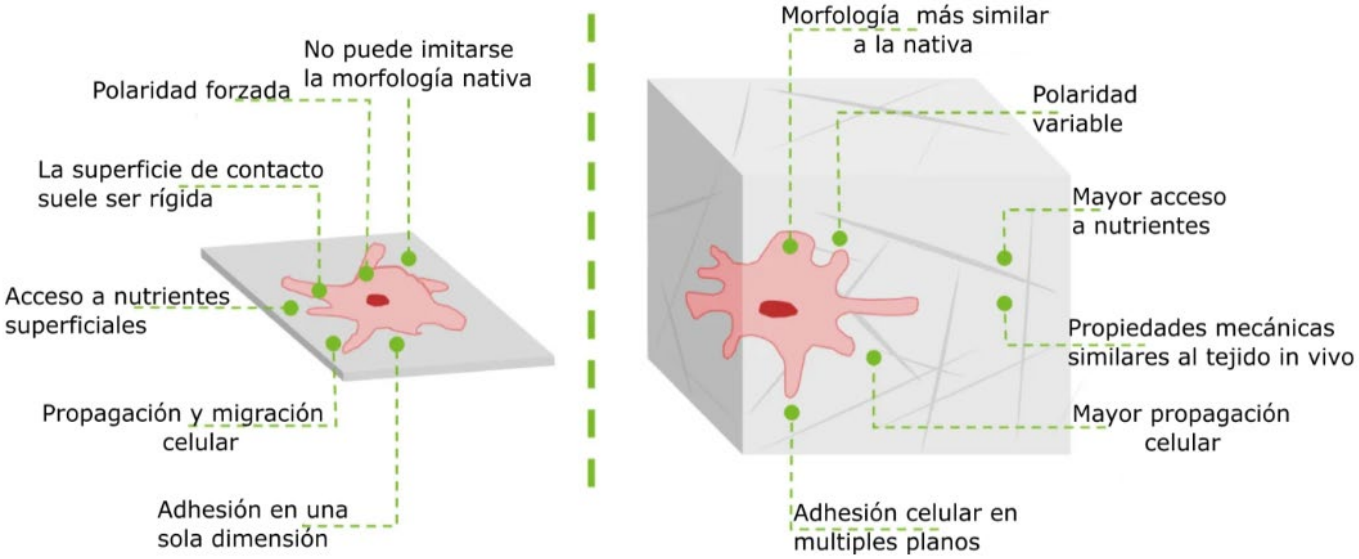

Figura 2. Diferencias entre una tinta y biotinta. Fuente. Modificada de upmbiomedicals

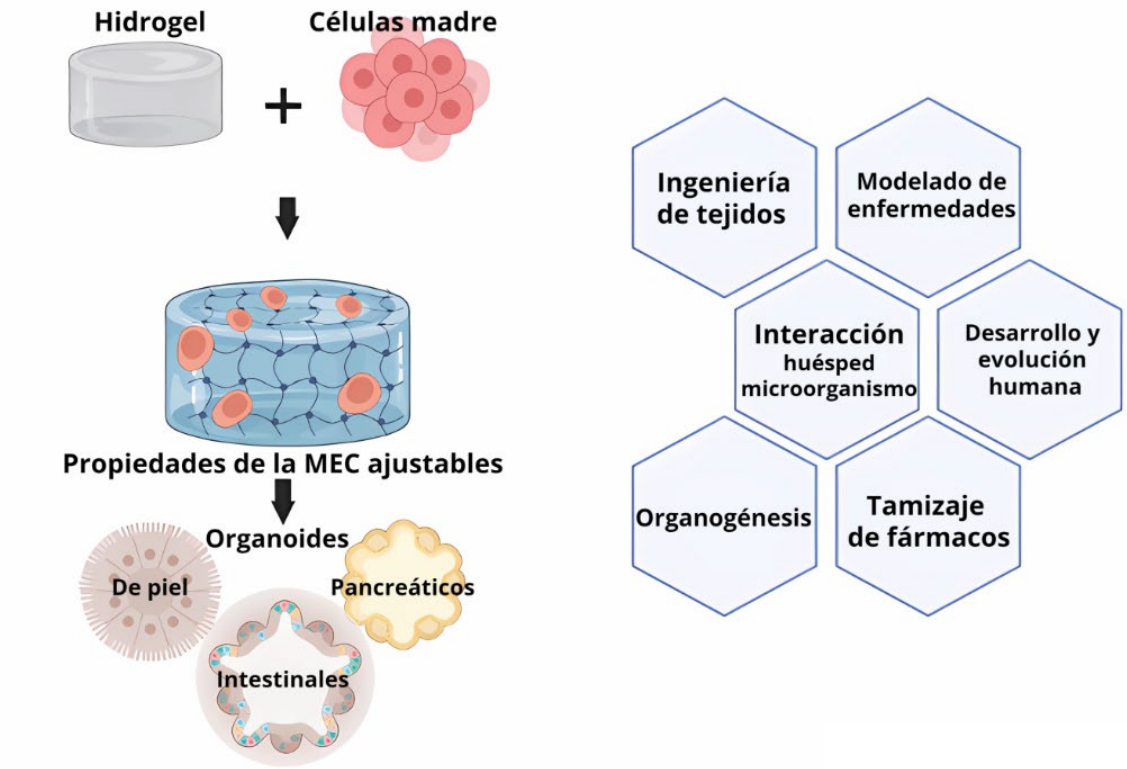

Figura 3. Organoides y algunas de sus aplicaciones

Los organoides se pueden clasificar de acuerdo con su potencial de diferenciación como: organoides derivados de células madre adultas multipotentes (ASC) y organoides derivados de células madre pluripotentes (PSC), siendo estas últimas capaces de diferenciarse a los 3 linajes embrionarios (endodermo, ectodermo y mesodermo) producidos durante la fertilización.

Las células madre multipotentes, o también llamadas órgano-específicas, son capaces de generar células de su propia capa embrionaria y pueden obtenerse de la médula ósea, sangre y cordón umbilical. Los organoides derivados de ASC son adecuados para modelar la regeneración y homeostasis celular, mientras que los organoides derivados de PSC pueden ser utilizados para estudiar trastornos del desarrollo[25].

Los hidrogeles usados para el cultivo de organoides pueden ser naturales, sintéticos e híbridos. Dentro de los biomateriales usados para la obtención de organoides encontramos: alginato, celulosa, fibrina, gelatina metacrilada, colágenas y biopolímeros derivados del polietilenglicol.

Los polímeros biocompatibles que forman el hidrogel aportan un entorno que favorece el crecimiento, proliferación y la correcta formación de los organoides. Existen reportes de que propiedades como la rigidez pueden beneficiar la formación de determinado linaje celular o incluso causar la sobreexpresión de algunas proteínas.

Conclusión

Así como existen dos formas de abordar la formación de nanopartículas (top-dow y

bottom-up), la ingeniería de tejidos actual y futura se encuentra en una renovación constante de los paradigmas de reparación de órganos y tejidos.

La ingeniería de tejidos, nacida alrededor de los años 60, adoptó el proceso de construcción de arriba hacia abajo (top-dow), en el cual los andamios son sembrados con células específicas y adecuadas al órgano a reemplazar.

Con el paso del tiempo se desarrollaron técnicas como la descelularización, la formación de hidrogeles a escala nanométrica, el cultivo 3D y el uso de organoides. Históricamente, esto propició la formación de nuevos campos de la ciencia, como la nanobiotecnología y el estudio de los bionanomateriales. Esto permite implementar estrategias de abajo hacia arriba (bottom-up) en la reparación de órganos y tejidos, lo cual trae consigo una nueva generación de biomateriales.

Agradecimientos

Queremos agradecer a la DGAPA UNAM por el financiamiento otorgado a través del Proyecto IT200424.

Referencias

1 O. Wichterle and D. Lim, Nature, 1960, 185, 117–118.
2 G. Mehta and V. Singh, Chemical Society Reviews, 2002, 31, 324–334.
3 S. Dadarwal, S. Madan and S. Agrawal, Acta Pharmaceutica, 2012, 62, 105–114.
4 Z. Grabarek and J. Gergely, Analytical Biochemistry, 1990, 185, 131–135.
5 Y.-J. Hwang, J. Granelli and J. Lyubovitsky, ACS Applied Materials & Interfaces, 2012, 4, 261–267.
6 J. P. Gosling, in Immunoassay, Elsevier, 1996, pp. 287–308.
7 Q. Zhang, X. Wang, Q. Mu, P. Liu, S. Jia, L. Chen, X. Zhang, K. Wang and Y. Wei, Materials Chemistry and Physics, 2015, 166, 133–143.
8 S. Salucci, S. Burattini, M. Battistelli, V. Baldassarri, M. Maltarello and E. Falcieri, International Journal of Molecular Sciences, 2012, 14, 532–546.
9 Z. Wang, X. Jin, R. Dai, J. F. Holzman and K. Kim, RSC Advances, 2016, 6, 21099–21104.
10 S. J. Bidarra, C. C. Barrias and P. L. Granja, Acta Biomaterialia, 2014, 10, 1646–1662.
11 E. Boanini, K. Rubini, S. Panzavolta and A. Bigi, Acta Biomaterialia, 2010, 6, 383–388.
12 P. P. Shah, H. B. Shah, K. K. Maniar and T. Özel, Procedia CIRP, 2020, 95, 143–148.
13 Y. Chen, Y. Zhou and C. Wang, Journal of Composites Science, 2022, 6, 227.
14 S. Sharifi, M. M. Islam, H. Sharifi, R. Islam, D. Koza, F. Reyes-Ortega, D. Alba-Molina, P. H. Nilsson, C. H. Dohlman, T. E. Mollnes, J. Chodosh and M. Gonzalez-Andrades, Bioactive Materials, 2021, 6, 3947–3961.
15 Q. Xing, K. Yates, C. Vogt, Z. Qian, M. C. Frost and F. Zhao, Scientific Reports, 2014, 4, 4706.
16 M. Sun, X. Sun, Z. Wang, S. Guo, G. Yu and H. Yang, Polymers, 2018, 10, 1290.
17 M. Di Giuseppe, N. Law, B. Webb, R. A. Macrae, L. J. Liew, T. B. Sercombe, R. J. Dilley and B. J. Doyle, Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2018, 79, 150–157.
18 S. O. Sarrigiannidis, J. M. Rey, O. Dobre, C. González-García, M. J. Dalby and M. Salmeron-Sanchez, Materials Today Bio, 2021, 10, 100098.
19 M. Yang, S. He, Z. Su, Z. Yang, X. Liang and Y. Wu, ACS Omega, 2020, 5, 21015–21023.
20 M. Maher, V. Glattauer, C. Onofrillo, S. Duchi, Z. Yue, T. C. Hughes, J. A. M. Ramshaw and G. G. Wallace, Marine Drugs, 2022, 20, 366.
21 S. H. Park, J. Y. Seo, J. Y. Park, Y. B. Ji, K. Kim, H. S. Choi, S. Choi, J. H. Kim, B. H. Min and M. S. Kim, NPG Asia Materials, 2019, 11, 30.
22 C. M. Nimmo, S. C. Owen and M. S. Shoichet, Biomacromolecules, 2011, 12, 824–830.
23 T. B. Ngo, B. S. Spearman, N. Hlavac and C. E. Schmidt, ACS Biomaterials Science & Engineering, 2020, 6, 6819–6830.
24 Z. Zhao, X. Chen, A. M. Dowbaj, A. Sljukic, K. Bratlie, L. Lin, E. L. S. Fong, G. M. Balachander, Z. Chen, A. Soragni, M. Huch, Y. A. Zeng, Q. Wang and H. Yu, Nature Reviews Methods Primers, 2022, 2, 94.
25 M. Hofer and M. P. Lutolf, Nature Reviews Materials, 2021, 6, 402–420.