



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
FORMACIÓN DE MINERALES EN SISTEMAS
BIOLÓGICOS: BIOMINERALIZACIÓN.

Autor: Andrea Torres Martínez

Fecha: Julio 2020

Tutor: Dra África Martínez Alonso

ÍNDICE

1. RESUMEN	
2. ABSTRACT.....	
3. INTRODUCCIÓN.....	
4. OBJETIVOS.....	
5. METODOLOGÍA.....	
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	
6.1 BIOMINERALIZACIÓN BENEFICIOSA	
6.1.1 FORMACIÓN DE HUESOS	
6.1.2 ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LOS HUESOS	
6.1.3 FORMACIÓN DE DIENTES	
6.1.4 ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LOS DIENTES	
6.2 BIOMINERALIZACIÓN PERJUDICIAL: LITIASIS HUMANAS	
6.2.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN SU FORMACIÓN	
6.2.2 CÁLCULOS BILIARES	
6.2.3 CÁLCULOS RENALES	
6.2.4 CALCIFICACIÓN VASCULAR	
6.3 TÉCNICAS DE ESTUDIO DE BIOMINERALES	
6.4 ESTRATEGIAS BIOMIMÉTICAS Y APLICACIONES DE LA BIOMINERALIZACIÓN	
6.4.1 REPARACIÓN DE TEJIDOS DUROS: HUESOS Y DIENTES	
6.4.2 MEJORA DE VACUNAS	
6.4.3 TERAPIA CONTRA EL CÁNCER	
7. CONCLUSIONES.....	
8. BIBLIOGRAFÍA.....	

1. RESUMEN

El término biomineralización hace referencia a la formación controlada de minerales en sistemas biológicos. Se trata de sólidos inorgánicos, mayoritariamente cristalinos, compuestos por una fase inorgánica embebida en una fase orgánica.

Los biominerales poseen un amplio abanico de funciones entre las que destacan la capacidad de formar soportes rígidos utilizados como protección (caparazones), trituración (dientes) y estructura (huesos).

A pesar de todos sus beneficios, la biomineralización también puede ser un proceso patológico. Un claro ejemplo de ello son las litiasis humanas, enfermedades en las que el fenómeno de calcificación biológica da lugar a cálculos renales, biliares, cardiovasculares, etc. En su desarrollo se han de tener en cuenta tanto factores anatómicos como conceptos fisico-químicos. Las técnicas más empleadas para la caracterización de dichos cálculos son la microscopía óptica, la difracción de rayos X y la microscopía electrónica de barrido, permitiendo analizar su estructura tanto en el interior como en la superficie.

Actualmente, la medicina regenerativa trata de crear equivalentes funcionales de tejidos humanos mediante células combinadas con biomateriales. Además, se encuentran en estudio y desarrollo aplicaciones de la biomineralización en ámbitos tan importantes como la mejora de vacunas y la terapia contra el cáncer.

Palabras clave: biomineralización, biomineral, química bioinorgánica, calcificación, medicina regenerativa.

2. ABSTRACT

The term biomineralization refers to the controlled formation of minerals in biological systems. These are inorganic solids, mostly crystalline, composed of an inorganic phase embedded in an organic phase.

have a wide range of functions, among which the ability to form rigid supports used as protection (shells), crushing (teeth) and structure (bones) stand out.

Despite all its benefits, biomineralization can also be a pathological process. A clear example of this are human lithiasis, diseases in which the biological calcification phenomenon gives rise to kidney, gallstones, cardiovascular stones, etc. In its development, both anatomical factors and physico-chemical concepts must be taken into account.

The most used techniques for characterizing these calculations are light microscopy, X-ray diffraction and scanning electron microscopy, allowing analysis of their structure both inside and on the surface.

Regenerative medicine is currently trying to create functional equivalents of human tissues using cells combined with biomaterials. In addition, applications of biomineralization are being studied and developed in such important areas as the improvement of vaccines and cancer therapy.

Key words: biomineralization, biomineral, bioinorganic chemistry, calcification, regenerative medicine.

3. INTRODUCCIÓN

La biomineralización es un proceso mediante el cual se forman, de manera controlada, minerales en los organismos vivos. Estos pueden depositarse dentro del organismo correspondiente o en su entorno próximo como resultado del metabolismo.

Dichos biominerales son sólidos inorgánicos producidos por las células en complejas etapas y están compuestos por una fase inorgánica embebida en una matriz orgánica. Aproximadamente el 80% de los minerales biogénicos son cristalinos y solo el 20% son amorfos.

Las fases más abundantes son: calcita CaCO_3 , aragonito CaCO_3 , hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ y ópalo $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

Debido a la baja solubilidad de sus carbonatos, fosfatos y oxalatos y su gran presencia en fluidos extracelulares, los minerales de calcio constituyen el 50% de todos los minerales biogénicos conocidos. Tras ellos encontraríamos a los minerales de hierro alcanzando el 40% de todos los biominerales.

Tipo	Mineral	Fórmula cristaloquímica	Localización
Fosfatos	Hidroxiapatito	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH}, \text{F}, \text{Cl})$ (hexagonal)	En huesos y dientes con ciertas impurezas y en calcificaciones patológicas (renales, biliares, tumorales)
	Fosfato octacálcico	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	En cálculos dentales
	Brushita	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Cálculos dentales y renales y en menor medida en huesos
	Whitlockita	$\text{Ca}_{18}\text{Mg}_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_{14}$	Cálculos renales, dentales y salivares; lesiones por caries dentales; calcificaciones de pulmones tuberculosos
	Estruvita	$\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Cálculos renales y biliares
Oxalatos	Whewellita	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (monoclínico)	Cálculos renales
	Weddellita	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (tetragonal)	Cálculos renales
	Caoxita	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (triclínico)	Cálculos renales
Carbonatos	Calcita	CaCO_3 (trigonal)	Otolitos, cálculos renales y biliares, glándulas salivales
	Aragonito	CaCO_3 (rómboico)	Cálculos biliares
	Vaterita	CaCO_3	Cálculos renales y biliares
Uratos	Ácido Úrico	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	Sistema urinario
Óxidos	Magnetita	Fe_3O_4	Sistema urinario
	Goethita/Lepidocrocita	FeOOH	Sistema urinario
	Hematites	Fe_2O_3	Sistema urinario

Tabla 1. Tipos de biominerales más comunes en el cuerpo humano con indicación de sus composiciones, sistemas cristalinos más comunes y su localización en el cuerpo (modificado de Elliot, 2002 y Wenk y Bulakh, 2004).

Alrededor del 60% contienen agua o grupos hidroxilos, por lo que las fases hidratadas están favorecidas presentando barreras energéticas más bajas frente a las fases anhidras homólogas. Se trata de cristales de dimensiones, formas y orientaciones bien definidas. Presentan diferentes polimorfos y, en su síntesis, gran flexibilidad de los organismos para regular los parámetros físico-químicos locales.

Los organismos vivos toman el control de los minerales y su crecimiento mediante situaciones extremas de las cuales podemos destacar la formación biológicamente inducida y la biológicamente controlada. En el proceso inducido se produce una precipitación fortuita de minerales con formas y tamaños heterogéneos mientras que en el controlado el proceso cristalquímico está destinado a cumplir funciones biológicas específicas. Además, este último presenta control genético, estructural, espacial y de las variables físico-químicas.

Hacia mitad y finales de los años 70, tras los estudios realizados por Moss, Isenbrg y Lavine de procesos biológicamente controlados, aparece lo que se denomina la teoría de la biomineralización con 5 características destacables:

- Se trata de un proceso celular
- Es bifásica presentando una fase orgánica y otra mineral
- La matriz orgánica tiene una fase organizada y una amorfa
- La fase orgánica determina la forma del mineral
- No es una precipitación

Y tras esto, las diferentes y amplias funciones que tienen los biominerales en los sistemas biológicos. La mejor conocida es la formación de estructuras rígidas utilizadas como protección (cáscaras, caparazones), trituración (dientes) o estructura (huesos). Pero también pueden servir como sensores para percibir la gravedad y el campo magnético terrestre.

Sin embargo, la biomineralización puede ser patológica como ocurre en el caso de los cálculos renales y biliares o en los acúmulos taponando arterias. Las calcificaciones cardiovasculares son acumulaciones patológicas de fosfatos cálcicos que derivan en la degradación del sistema cardiovascular.

En la actualidad, se están desarrollando estrategias biomiméticas y aplicaciones de la biomineralización en campos como la mejora de vacunas o en la terapia contra el cáncer.

4. OBJETIVOS

- Definición del término de biomineralización así como de biomineral, procesos de formación, características químicas y estructurales y funciones.
- Explicación de los conceptos de biomineralización beneficiosa y perjudicial con ejemplos para mejorar su comprensión.
- Breve descripción de técnicas de estudio de los biominerales.
- Estrategias biomiméticas y sus aplicaciones para la mejora de la vida de los seres humanos.

5. METODOLOGÍA

En la elaboración de este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de artículos científicos, tanto en español como en inglés, publicados en revistas recogidas en bases de datos como PubMed, ScienceDirect y Google Scholar.

También se han consultado libros especializados en Química Bioinorgánica.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Biomineralización beneficiosa

6.1.1 Formación de huesos

El tejido óseo es uno de los más resistentes y rígidos del cuerpo humano (Figura 1).



Figura 1. Composición del hueso humano. (1)

Cabe destacar que el colágeno constituye la proteína estructural más abundante en dicho tejido. Las células que fabrican la matriz del hueso se llaman osteoblastos y gracias a ellas se inicia el proceso de mineralización por la producción de fosfatasa alcalina. Existe también otro tipo de células relacionadas con la resorción del tejido óseo llamadas osteoclastos, poseen varios núcleos y participan en procesos de remodelación (Figura 2). (1)

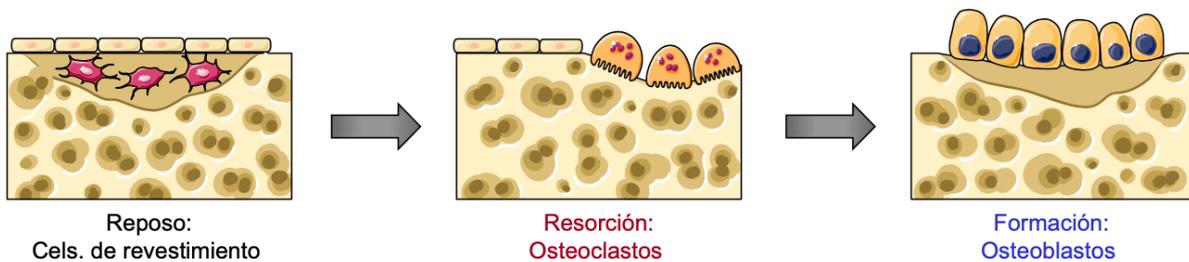


Figura 2. Remodelado óseo. (2)

El tejido óseo se somete anualmente a una remodelación del 10% del esqueleto. En primer lugar los osteoclastos se encargan de la resorción del hueso y, tras ella, los osteoblastos formarán la matriz ósea que posteriormente se mineralizará. Al finalizar la resorción, los osteoclastos sufren apoptosis y desaparecen; y los osteoblastos derivan en procesos diferentes: algunos también sufren apoptosis, muchos de ellos quedan embebidos en la matriz y se transforman en osteocitos y, los restantes, se transforman en células que recubren la superficie ósea. (2)

La parte inorgánica del hueso está formada en su gran mayoría por apatito. Se trata de un mineral que al inicio se deposita sobre la matriz orgánica en forma de sales de fosfato de calcio y después se transforma en cristales de hidroxiapatito. El apatito biológico presenta, diferenciándose así del apatito mineral, composición no estequiométrica y una relación Ca/P distinta de 1.667. Además, puede estar compuesto por cantidades variables de iones CO_3^{2-} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , F^- , HPO_4^{2-} , etc. Su cristalinidad varía según la edad del individuo: en los niños el apatito es amorfo, poco cristalino y muy reactivo formándose mejor el hueso mientras que en los ancianos es mucho más cristalino y con cristales de tamaño más grande lo que ocasiona una mayor dificultad en su formación. Cuando el apatito y las fibras colágenas se asocian, son los responsables de la dureza y resistencia característica del tejido óseo.

Durante toda la vida hay un intercambio continuo entre el calcio de los huesos y el del plasma sanguíneo. Gracias a la alimentación, conseguimos aumentar el Ca en sangre y hacer que se dirija rápidamente al tejido óseo para depositarse. Pero, cuando disminuye el nivel sanguíneo de este elemento, el calcio de los huesos se moviliza intentando paliar dicha carencia.

En etapas tempranas, mientras estamos en crecimiento, poseemos más cantidad de osteoblastos y son más activos. Esto se traduce en mayores aportes al hueso por la actividad física, acción de hormonas como los estrógenos y la testosterona, vitamina D y calcio.

En edad más avanzada, la cantidad y la actividad de los osteoclastos aumenta movilizándolo o eliminando el calcio depositado previamente en el tejido óseo. (1) Al ir envejeciendo, los cristales de apatito de los huesos aumentan de tamaño provocando la pérdida de materia orgánica y aumentando la fragilidad. (3)

6.1.2 Enfermedades relacionadas con los huesos

Determinadas enfermedades que afectan al tejido óseo (Tabla 2) son causadas tanto por procesos de mineralización deficiente o excesiva como por la pérdida de rigidez y resistencia. Algunas de estas dolencias pueden ser graduales y depender de factores extrínsecos (ambientales) como la alimentación o el ejercicio físico pero también puede tratarse de anomalías genéticas.

La más conocida es la osteoporosis, causada por pérdida excesiva de masa y eliminación de calcio en los huesos. Se le suele asociar deficiencias en el contenido de flúor, calcio y fosfatos o problemas metabólicos. Además de la vejez, la menopausia es uno de los momentos en los que el riesgo de padecerla es mayor. Hasta día de hoy no existe solución para dicha enfermedad, aunque sí se consigue retrasar sus efectos nocivos mediante dietas, ejercicio físico o medicamentos.

Otra de ellas es la osteomalacia (raquitismo en niños), se debe a un problema del cuerpo para absorber calcio y fósforo originando el reblandecimiento de los huesos. Esto es propiciado por una carencia severa de vitamina D. En personas que la padecen la cantidad de colágeno es más elevada de lo normal, siendo menor la de mineral. Se asocian a ella variaciones genéticas o problemas metabólicos.

Causada por un extraño desorden congénito al nacer encontramos la osteopetrosis. Debido al mal funcionamiento de los osteoclastos, los huesos se vuelven más densos y existe un desequilibrio entre la formación y resorción de ellos. Aunque la masa se incrementa, el esqueleto se vuelve frágil al no ser equitativo el modelado y remodelado del hueso. (3)

Enfermedad	Frecuencia	Contenido mineral	Tamaño del cristal de apatito
Osteoporosis	Alta	Variable	Aumenta
Osteomalacia	Alta	Disminuye	Aumenta
Osteopetrosis	Baja	Aumenta	Disminuye

Tabla 2. Enfermedades de los huesos. (3)

6.1.3 Formación de dientes

En los dientes se distinguen cuatro partes bien definidas (Imagen 1):

- **Esmalte** {
 - Apatito (96%)
 - Materia orgánica y agua (4%)
- **Dentina** {
 - Apatito (70%)
 - Proteínas colágenas y agua (30%)
- **Cemento radicular:** apatito
- **Pulpa:** materia orgánica

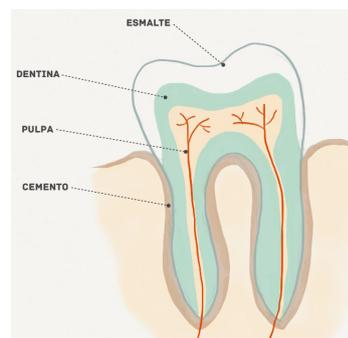
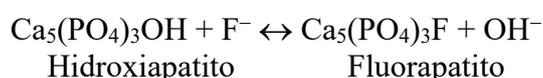


Imagen 1: PHB Salud Bucal

El esmalte es el tejido más duro y mineralizado del cuerpo humano, cubre la superficie de la corona del diente. La estructura que forman los cristales de apatito que posee son los responsables de dicha propiedad. Un poco más abajo encontramos la dentina, que también es un tejido duro pero presenta cierta elasticidad. En ella predomina la composición inorgánica ya que está formada por un 70% de apatito. El cemento radicular es un tejido duro que rodea la raíz y que también posee dicha parte inorgánica. Por último, la responsable de proteger al diente y de formar la dentina es la pulpa. Se trata de un tejido blando y muy vascularizado que aporta sensibilidad.

Un ciclo continuo de desmineralización y remineralización dependiente del pH se lleva a cabo en la superficie de los dientes. Si se encuentra por debajo de 5,5 se van a liberar iones calcio y fósforo a la saliva originando la desmineralización. Pero, al tratarse de una solución saturada en dichos iones, es posible que al subir el pH los iones calcio y fósforo vuelvan a formar parte de la superficie del diente dándose la remineralización. En este mecanismo juegan un papel importante la alimentación y la presencia de placa bacteriana ya que pueden producir una disminución del pH de la saliva. Esta acidez sería la responsable de la disolución del apatito provocando una cavidad en el diente (caries).

El flúor también juega un papel muy importante en el ciclo ayudando a mantener la salud dental gracias a sus propiedades. Es ligeramente bacteriostático, dificulta la adhesión de placa bacteriana, amortigua el pH ácido y facilita la remineralización por formación de fluorapatito $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$. Este mineral presenta mayor resistencia al pH ácido, por lo que el diente será más resistente a la desmineralización. La sustitución de cristales de hidroxiapatito por fluorapatito se lleva a cabo mediante la siguiente reacción (1):



6.1.4 Enfermedades relacionadas con los dientes

La patología más común en nuestro día a día son las caries, se desarrollan por una deficiente mineralización en la superficie del diente. El principal responsable de su aparición es el pH ácido, aunque también son muy perjudiciales los azúcares. Los ataques de dichos ácidos se ven favorecidos por la gran microporosidad que posee el esmalte (a pesar de su dureza).

Como ya se ha explicado anteriormente, cuando el pH se sitúa por debajo de 5,5 durante periodos prolongados el equilibrio se rompe a favor de la desmineralización dando lugar a la formación de la caries. Es un claro ejemplo de interacción entre nutrición e infección.

En cuanto a su prevención, el elemento más destacado es el flúor. Sin embargo, un exceso de este mineral puede derivar en efectos adversos como la fluorosis (hipomineralización del esmalte dental por aumento de la porosidad).

Otra enfermedad relacionada con los dientes es la periodontal. Se desarrollan placas de minerales (cálculos) por bacterias que sobreviven en los carbohidratos que se adhieren a los dientes generando inflamación e infección. Por este motivo lo habitual es presentar encías sangrantes.

Finalmente podemos nombrar la amelogénesis imperfecta. Se trata de una enfermedad genética que puede estar asociada a cambios bioquímicos afectando a la estructura del esmalte y originando un desequilibrio en su mineralización. (3)

6.2 Biomineralización perjudicial: Litiasis humanas

La litiasis es una enfermedad en la que se forman cálculos por el cuerpo humano, especialmente en las vías urinarias y biliares. Dichos cálculos son originados mediante un proceso de calcificación biológica. (1)

6.2.1 Factores que influyen en su formación

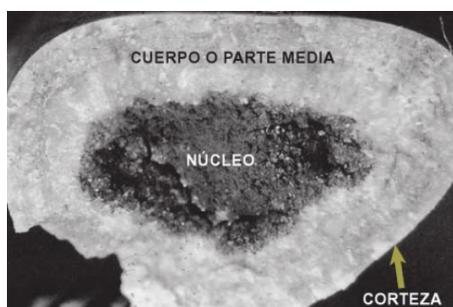
Actualmente se considera que en la formación de cálculos influyen tanto factores anatómicos como conceptos físico-químicos. A continuación vamos a comentar algunos de ellos:

- **Dieta.** Sobre todo si es rica en grasas saturadas, insaturadas, azúcares y proteínas animales. A ingestas elevadas de sodio se asocia la litiasis cálcica. (4) También se ha demostrado que individuos con deficiencias en ciertas vitaminas como la A o la B desarrollan más fácilmente cálculos renales. Además, es importante tener en cuenta que el exceso de calcio en medio básico puede precipitar como fosfato cálcico, especial cuidado si tomamos bicarbonato sódico junto con gran cantidad de leche. En lo que respecta a la litiasis biliar parece existir relación con hábitos dietéticos asociados a la industrialización y el desarrollo económico. Dos claros factores de riesgo que influyen en ella son la diabetes y la obesidad. (1)
- **Geografía y clima.** Mayor incidencia en climas calurosos y secos asociado a la deshidratación que se puede desencadenar y oliguria con saturación y concentración de solutos en orina. El tipo de suelo y el agua también podrían ser importantes en ciertas regiones por presentar elevada cantidad de sulfatos. (4)
- **Actividad física.** Existe la posibilidad de que la práctica de ejercicio esté relacionada con la prevención de cálculos.
- **Raza o grupo étnico.** Se observa mayor frecuencia en personas asiáticas y de raza blanca, es posible que se deba a variaciones socioculturales y alimentarias. El predominio aumenta con la edad y los factores genéticos resultan decisivos.
- **Sexo e historia familiar.** La litiasis renal es más común en hombre mientras que la biliar es más frecuente en mujeres. Influyen también factores hereditarios.

- **Sales minerales y oligoelementos.** Algunas sales y oligoelementos esenciales presentan gran interés para la prevención de la recurrencia de la formación de cálculos. Por ejemplo, utilizando el Al y el Mg como posibles agente terapéuticos formando iones complejos solubles o inhibiendo la nucleación cristalina. También el Fe y el Cu que pueden aumentar la solubilidad del oxalato cálcico. Respecto a este tema hay muchas investigaciones en curso.
- **Medicamentos.** La ingesta de medicamentos que modifican el pH de la orina podría influir en la precipitación de fosfato cálcico (pH básico) o ácido úrico (pH ácido). (1)

6.2.2 Cálculos biliares

Son acumulaciones sólidas de pigmentos biliares cristalizados que pueden estar formados por una sola mineralización grande o por varias piedras de menor tamaño.

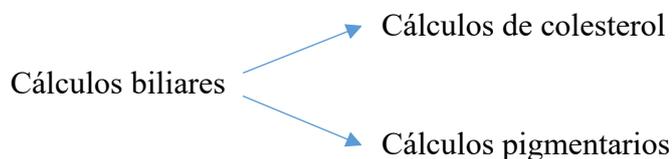


Están divididos en tres partes (Imagen 2):

1. Núcleo donde se inicia la cristalización.
2. Cuerpo o parte media que corresponde a la etapa de desarrollo.
3. Corteza donde se detiene el crecimiento.

Imagen 2. Tomada de Ruiz de Aguiar et al., 1988

Los cálculos biliares están formados por colesterol, pigmentos biliares, carbonato de calcio y sales metálicas en distintas proporciones (Tabla 3):



	Clasificación	Composición
Cálculos de colesterol	<ul style="list-style-type: none"> • Mixtos: colesterol, bilirrubina y sales de calcio. • De combinación: colesterol radiado y capas mixtas. • Puros: colesterol (>70%). 	Colesterol (> 30%) Carbonato cálcico Palmitato cálcico
Cálculos pigmentarios	<ul style="list-style-type: none"> • Marrones: asociados a infecciones biliares. • Negros: asociados a cirrosis en el hígado. 	Bilirrubinato cálcico Colesterol Proteínas Fosfato cálcico Carbonato cálcico Palmitato cálcico

Tabla 3. Composición y clasificación de los cálculos biliares. (1)

El Ca^{2+} de los pigmentos biliares tiene un rol importante en la formación de dichos cálculos ya que es capaz de combinarse con los diferentes iones presentes. Mientras que el colesterol y los pigmentos biliares se distribuyen en el cuerpo, las zonas calcificadas lo hacen tanto en el perímetro de la piedra (anillos concéntricos) como en el medio de ella (distribución irregular). (1)

Cálculos de colesterol

En el mundo occidental un 85% de las litiasis biliares desarrolladas se deben a cálculos de colesterol. Su contenido supera el 30% de colesterol y posee, en menor medida, carbonato cálcico y palmitato cálcico. Los microcristales se disponen con apariencia radiada del núcleo a la corteza presentando formas semejantes a espigas, plumas o abanicos.

Aproximadamente un 6% de dichos cálculos es palmitato cálcico y puede presentarse de dos maneras diferentes: diseminado y acumulado. El primero destaca por formar pequeñas esferas blancas similares a perlas; se localizan en núcleo y parte media pero nunca en corteza. Por otra parte, el acumulado posee aspecto de algodón y se dispone próximo al núcleo. Localmente puede variar el color desde el blanco al amarillo oscuro debido a los pigmentos.

En cuanto a la fisiopatología existen 3 factores claves para su formación: la sobresaturación de bilis por colesterol, la cristalización acelerada y la alteración de la motilidad en la vesícula biliar (vaciamiento) y el tránsito intestinal lentificado. Estos procesos se encuentran regulados internamente y de manera precisa por mecanismos fisicoquímicos concretos. (1)

Cálculos pigmentarios

Su mayor componente son pigmentos biliares en forma de complejos metálicos de bilirrubina y sus polímeros. Son sustancias con estructura amorfa cuya coloración varía desde amarillo pasando por marrón, rojizo, verdoso y llegando hasta negro.

El más común procede de la bilirrubina conjugada y es el bilirrubinato cálcico. Mediante la acción de bacterias se forma la sal cálcica que precipita formándose el cálculo en el interior de la vesícula biliar. (1)

Los marrones están compuestos principalmente por bilirrubinato de calcio (de 40 a 60%) y colesterol (menos de 30%). En general, están relacionados con estasis e infección de la bilis encontrando bacterias en más del 90% de este tipo de litiasis. Suelen ser radiolúcidos y presentan consistencia blanda. Los distintos tonos que adquieren se deben a la dilución del bilirrubinato cálcico por el colesterol y los ácidos grasos. (5,6)

Los negros, por su parte, representan el 20-30% de las colelitiasis y también están formados por bilirrubinato cálcico pero no presentan colesterol. Al contrario que los anteriores, son duros y más de la mitad son radiopacos. Se asocian a enfermedades como la cirrosis hepática y alteraciones hemolíticas crónicas. (5)

6.2.3 Cálculos renales

La litiasis renal afecta a un 15% de la población, siendo por ello una causa importante de morbilidad y coste económico. Además, puede estar relacionada con la aparición de otras enfermedades extrarrenales como la osteoporosis. (7)

Los órganos encargados de la eliminación de sustancias insolubles como el calcio, ácido úrico, fosfatos, oxalatos, etc. son los riñones. Cuando el sistema inhibitor que poseen se altera, evita la solubilidad de dichas sustancias y su posterior excreción en orina generando la formación de cálculos renales. En esta solubilidad también influye el pH de la orina: por ejemplo, el ácido úrico precipitará en condiciones ácidas mientras que los fosfatos cálcicos lo harán en pH alcalinos. (8)

Las piedras de las vías urinarias (Tabla 4) presentan una gran variación en cuanto a tamaño, forma, color, composición y textura. Aproximadamente en el 80% de los cálculos renales destaca el calcio, siendo más frecuentes oxalato y fosfatos cálcicos. El 20% restante englobaría a los cálculos constituidos por compuestos purínicos y otros poco comunes como aminoácidos o sustancias de origen farmacológico. (1)

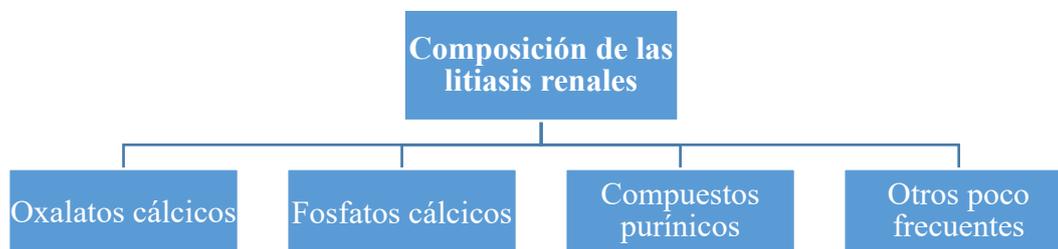


Tabla 4. Composición de las litiasis renales. (1)

Oxalatos cálcicos

Son compuestos muy comunes en las litiasis renales. En adultos sanos, la eliminación de ácido oxálico en orina de 24 horas es de 20 a 30 mg lo cual supone un elevado riesgo de formación de cálculos. El radical oxálico es capaz de unirse al ión calcio generando un producto resultante de baja solubilidad, el oxalato cálcico. Influyen tanto la presencia de gran cantidad de oxálico como la concentración de calcio en la orina aún siendo la de oxálico normal. En la mayoría de los casos podemos observar que el primer oxalato que se forma es la weddellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Imagen 3), siendo sus cristales los más comunes en los sedimentos urinarios. Debido a su escasa estabilidad pierde una molécula de agua y se transforma en el monohidrato whewellita ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (Imagen 4), no obstante, puede ocurrir que se mantenga como dihidrato en algunos casos. En ocasiones, incluso se produce la precipitación de whewellita en el cálculo sin haber pasado previamente por la forma dihidratada. (1)



Imagen 3. Weddwellita. (9)

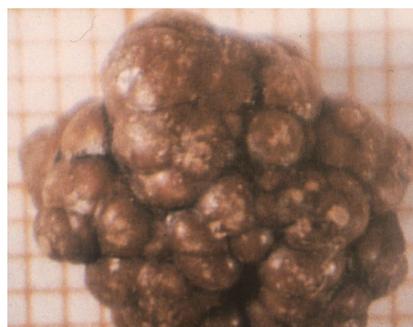


Imagen 4. Whewellita. (9)

Fosfatos cálcicos

En las litiasis, los fosfatos cálcicos apatíticos más frecuentes son próximos al hidroxiapatito y carbonato-apatito. Otros fosfatos que podemos encontrar son fosfato amónico magnésico y distintos fosfatos magnésicos. La estruvita ($\text{MgNH}_4(\text{PO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) representa el fosfato amónico magnésico más común en litiasis de mayor malignidad clínica, siendo un mineral que aparece

exclusivamente en infecciones provocadas por bacterias ureolíticas. En cuanto a los fosfatos magnésicos el más común es el ortofosfato trimagnésico pentahidratado ($Mg_3(PO_4)_2 \cdot 5H_2O$), sin embargo, no es habitual que aparezca en las litiasis renales. Se forma a través de una lenta recristalización tras la pérdida de amoníaco del fosfato amónico magnésico. Dicha pérdida también podría dar lugar a newberyita ($MgHPO_4 \cdot 3H_2O$), mineral que se formaría cuando los cálculos están un tiempo en contacto con el aire.

En menor medida se forma brushita ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$), cuyos cristales observados a lupa binocular presentan aspecto de abanico. (1)

Compuestos purínicos

El tercer componente que más aparece en los cálculos renales es el ácido úrico. Forma parte de los compuestos purínicos que engloban a la tiopurina y sus sales (uratos). Actualmente, el ácido anhidro pseudoortorrómbico y monoclinico corresponde al tipo I ya que existe otra segunda forma del ácido úrico que se llama tipo II. Por otra parte, los uratos más frecuentes en las litiasis renales son:

- Urato amónico: el tipo I está relacionado con la aparición de hidróxido amónico variando el pH hacia alcalino y presente en la orina con infección ureolítica. Respecto al tipo II, se origina cuando el ácido úrico capta el amoníaco que proviene de las células tubulares renales en orinas asépticas. Ambos presentan cristalizaciones diferentes.
- Uratos complejos: se observan en piedras que presentan mayoritariamente ácido úrico y otros uratos. Dan lugar a uratos amorfos y contienen tanto Na^+ y K^+ en distintas proporciones como algo de NH_4^+ y pequeñas cantidades de Ca^{2+} y Mg^{2+} .
- Uratos monosódico y potásico: raramente presenten en dicha afección.

También pueden aparecer otros compuestos como xantina, lo cual significaría que no se ha realizado el paso a ácido úrico por parte de la enzima xantino-oxidasa; y 2,8-dihidroxiadenina que se debe a una alteración congénita de la enzima adeninfosforribosiltransferasa. (1)

Compuestos poco frecuentes

Dentro de este bloque podríamos encontrar aminoácidos con muy poca solubilidad como la cistina ($S_2C_6O_4H_{10}$), y componentes derivados de fármacos debido a su gran consumo y también a la baja solubilidad que presentan. Entre ellos destacarían sulfamidas, tetraciclinas, sílice (por gran ingestión de silicatos), etc. (1)

6.2.4 Calcificación vascular

Las calcificaciones cardiovasculares son acumulaciones patológicas de fosfatos cálcicos que derivan en la degradación del sistema cardiovascular. El mineral más frecuente es la hidroxiapatita (HAP) y su localización puede ser en las arterias (Imagen 5), el miocardio o las válvulas del corazón (Imagen 6).

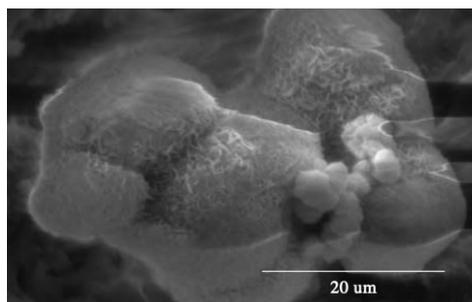


Imagen 5. Depósito de HAP en arteria. (10)

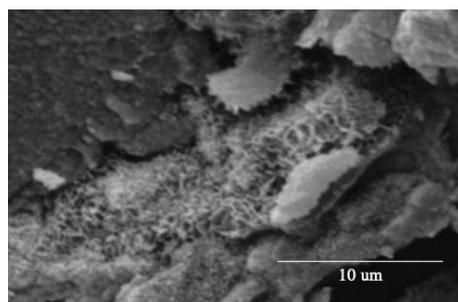


Imagen 6. Depósito de HAP en válvula cardíaca. (10)

La válvula cardiaca más afectada es la aórtica, en ella se depositan los minerales apatíticos desencadenando su endurecimiento y posteriormente su fallo. Dicha calcificación produce daño tanto en válvulas naturales como en prótesis, pero la etiología será diferente ya que la calcificación de las bioprótesis puede ocurrir sin presencia de enfermedades.

Su composición corresponde a hidroxiapatitas sustituidas y es muy similar en ambos tipos de válvulas, lo que hace pensar que los mecanismos de formación y maduración son semejantes.

Si tenemos en cuenta la cristalización de los depósitos calcificados, resulta mayor en válvulas mitrales naturales. Este hecho sugiere que la formación de cristales es un proceso dependiente del tiempo, así pues en implantes los depósitos son menos cristalinos debido a su menor permanencia. El flujo sanguíneo y el continuo movimiento de las válvulas cardiacas influye acelerando la maduración y perfeccionando dichos cristales biominerales.

En cuanto a su mecanismo de formación, inicialmente puede deberse a lesiones celulares (Figura 3). Al estar dañada la célula, se produce una gran acumulación de calcio desequilibrándose la bomba Ca^{2+}/Na^{+} . A esto se suma la elevada concentración de fosfato dentro ella, el gran exceso de ATP y la falta de inhibidores naturales de la cristalización, lo cual conduce a dicha nucleación y formación de fosfato cálcicos en membranas celulares.

En situaciones especiales, como sería el caso de pacientes con insuficiencia renal crónica y diálisis, los niveles de fosfato inorgánico en sangre (rango normal: 1,0-1,5 mmol/L) se encuentran elevados presentando hiperfosfatemia (> 2 mmol/L). El desequilibrio mineral sistémico que presentan hace que sus calcificaciones se denominen metastásicas.

Respecto a estrategias para su prevención destacamos (10):

- Bisfosfonatos \rightarrow controlan e inhiben la calcificación de bioprótesis cardiacas.
- Iones metálicos como Mg^{2+} \rightarrow impide la transformación de los precursores.

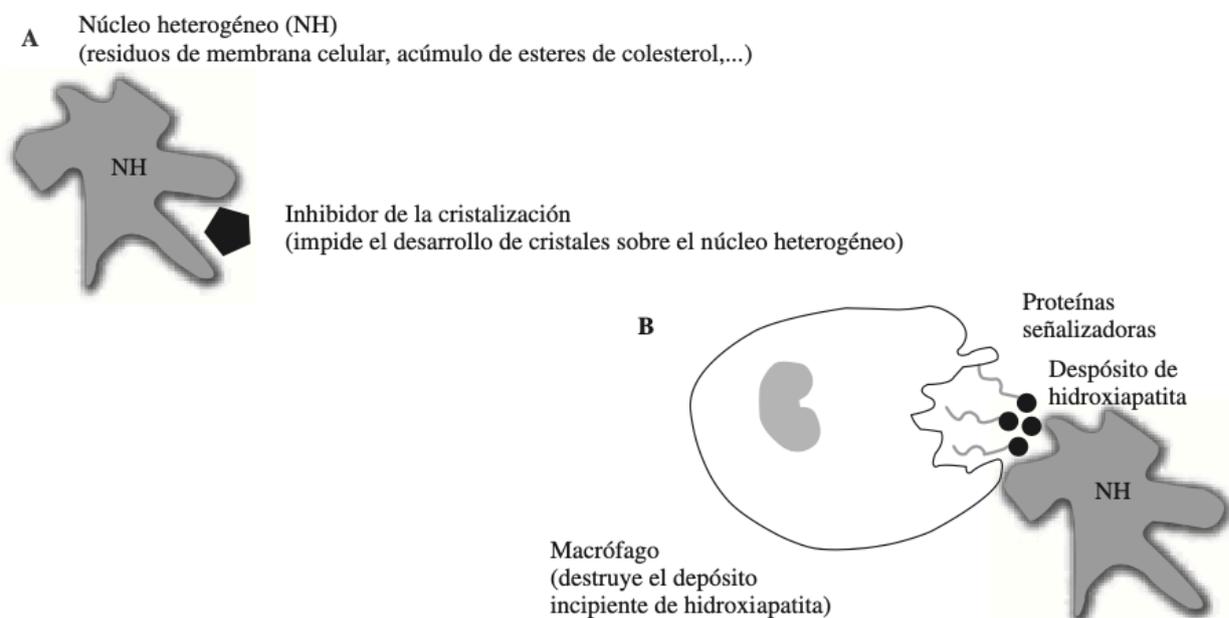


Figura 3. A) Los inhibidores de la cristalización impiden o dificultan el desarrollo de depósito mineral en el tejido lesionado. B) El macrófago, modulador celular, podría influir en la destrucción de microdepósitos minerales mediante su fagocitosis. (10)

6.3 Técnicas de estudio de biominerales

Los biominerales, aunque presentan características peculiares, se estudian de manera análoga a los minerales inorgánicos (Figura 4). Se destacan tres técnicas utilizadas para su caracterización: microscopía óptica, difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido.

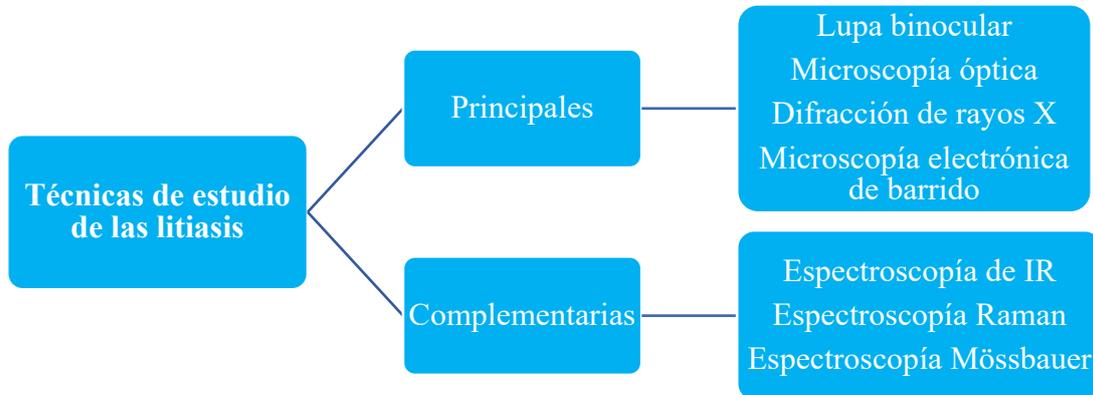


Figura 4. Técnicas de estudio de las litiasis. (1)

En el tratamiento y diagnóstico de las patologías relacionadas con huesos y dientes se tienen en cuenta las diferentes densidades entre el apatito (alrededor de 3 g/cm^3) y los tejidos blandos (poco más de 1 g/cm^3), caries en dientes, y fisuras y fracturas en los huesos. La técnica empleada en estos casos es la transmisión de rayos X (radiografía, ortopantomografía) (Imagen 7, 8).



Imagen 7. Fractura de cúbito y radio



Imagen 8. Ortopantomografía con caries.

Respecto a las litiasis, en primer lugar se estudia y analiza su estructura, tanto el interior como la superficie del cálculo. Gracias a esto se pueden conocer sus núcleos de cristalización y sus respectivas fases de crecimiento. Normalmente se procede a su ruptura en dos mitades, evitando serrar ya que se podría ocasionar la alteración de alguno de los cristales alojados su interior. La morfología se analiza mediante lupa binocular, con la que se logra conseguir hasta 50 aumentos de la piedra.

La difracción en rayos X y la microscopía óptica son dos técnicas empleadas en la caracterización de los diferentes minerales que forman las fases por las que está compuesto un cálculo. Dicho estudio se completa con el microscopio electrónico de barrido, examinando la litiasis a más de 20000 aumentos. Además, sería posible llevar a cabo un análisis químico de los cristales si el microscopio incorpora dispersión de energía de rayos X (EDS).

Teniendo en cuenta el pequeño tamaño que presentan los cristales de apatito, se puede inducir la recristalización del hidroxiapatito mediante calentamiento para obtener picos de difracción característicos y más fácilmente reconocibles.

En cuanto a las técnicas de estudio de biomateriales complementarias destaca la espectroscopía de Mössbauer, gracias a la cual es posible analizar y caracterizar los cálculos pigmentados de vesícula. (1)

6.4 Estrategias biomiméticas y aplicaciones de la biomineralización

El objetivo principal de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa es crear equivalentes funcionales de tejidos humanos para la sustitución y reparación de diferentes estructuras del cuerpo humano mediante células combinadas con biomateriales. (11)

6.4.1 Reparación de tejidos duros: huesos y dientes

Los materiales empleados en la reparación del hueso deben cumplir una serie de características (osteoconductividad, biocompatibilidad, reabsorbilidad, resistencia mecánica) para considerarse ideales. (12) Los más estudiados incluyen la hidroxiapatita, otras cerámicas bioactivas de fosfato de calcio, carbonato de calcio y polímeros biodegradables. A pesar de tener estas opciones en investigación, ninguna de ellas cumple todos los requisitos para crear una estructura perfecta. (13)

Recientemente, se ha desarrollado un nuevo hidrogel de doble red combinado con hidroxiapatita que tiene muy buenas propiedades mecánicas y es capaz de llevar a cabo la regeneración del tejido. (12)

Los nanocompuestos bioactivos que contienen silicatos presentan un gran potencial para aplicaciones en dicha reparación ósea. Así pues, las nanoestructuras destacan en su uso para el diseño y fabricación de compuestos que imiten tejido mineralizados pero aún se encuentran en estudio necesitando ser probadas y validadas. (13)

En cuanto a la reparación de dientes, están en marcha estrategias biomiméticas para reconstruir la mineralización del esmalte dañado. La agarosa y la gelatina son polisacáridos que se pueden utilizar para dar lugar a cristales de hidroxiapatita y reparar dicho esmalte. También aminoácidos como el ácido glutámico colabora en el control de la estructura resultante similar al esmalte.

Actualmente, una síntesis biomimética a gran escala resulta compleja y poco rentable. (12)

6.4.2 Mejora de vacunas

Los cambios de temperatura afectan a la integridad de las vacunas, es por eso que requieren refrigeración continua para conservar su potencia. Dicha inestabilidad representa una barrera para los programas de vacunación y, para mejorar los rasgos físicoquímicos, se pueden emplear estrategias de modificación de la cápside del virus. El fosfato de calcio (CaP) es uno de los estabilizadores utilizados gracias a su biocompatibilidad y, además, se usa como adyuvante. Se diseñó una estrategia basada en la biomineralización para modificar levemente la superficie de la vacuna mediante su recubrimiento conservando su actividad.

También se propuso dicha técnica para aumentar la utilización de vacunas administradas por vía nasal (Figura 5), puesto que la cubierta de fosfato cálcico mejora la adherencia a la mucosa de los tejidos nasales. (12)

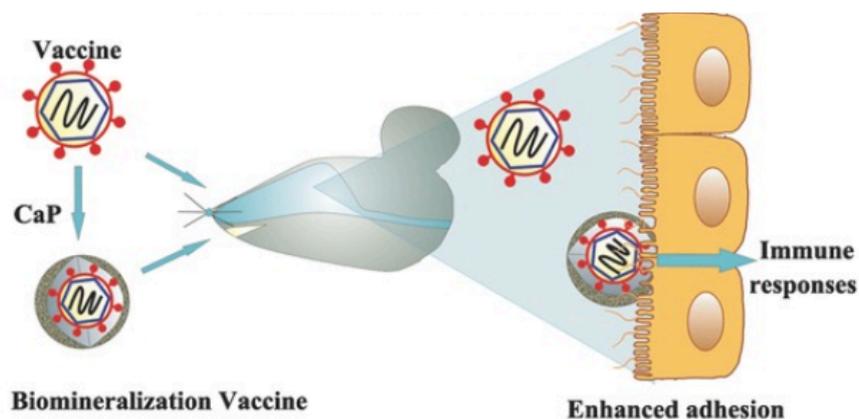


Figura 5. Vacuna biomineralizada para inmunización por vía nasal. (12)

6.4.3 Terapia contra el cáncer

Como ya hemos comentado anteriormente, la acumulación de minerales en tejidos blandos se produce de manera anómala causando enfermedades. Esta biomineralización anormal puede ocasionar la muerte celular pudiendo ser aprovechada como estrategia en células y tejidos tumorales para el tratamiento del cáncer. Se trataría de una “mineralización patológica biomimética” denominada calcificación dirigida a células cancerosas (CCTC) (Figura 6).

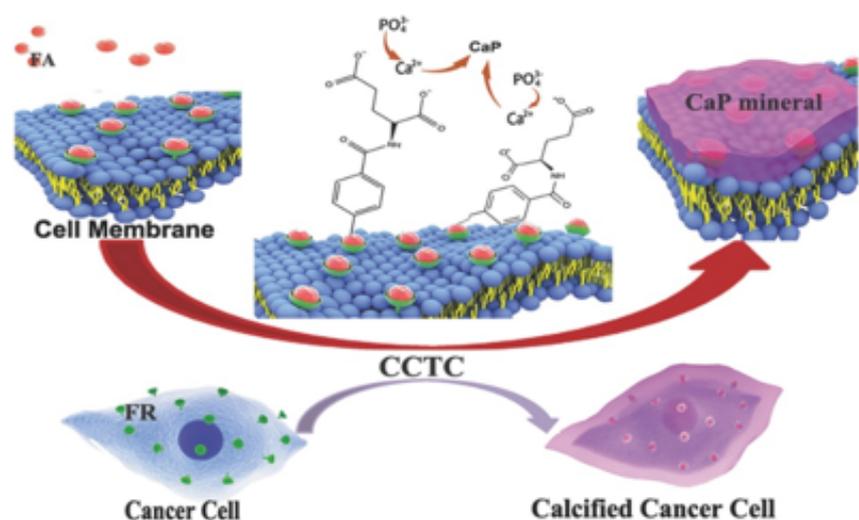


Figura 6. Terapia tumoral CCTC libre de fármacos. (12)

La sobreexpresión del receptor de folato característica de algunas células tumorales podría ser utilizada para concentrar iones calcio y desencadenar la calcificación celular. En dicho tratamiento, la capa mineral de fosfato de calcio da lugar a muerte celular ya que produce la aglutinación de los núcleos de las células. Esta terapia presenta numerosas ventajas frente a la quimioterapia: el folato y el calcio forman parte del metabolismo humano siendo innecesaria la presencia de fármacos; en un estudio realizado en ratones se vio que se produce la supresión de la metástasis secundaria por inhibición del crecimiento total. CCTC mejora la tasa de supervivencia sin destruir células sanas, sin embargo, la concentración requerida de iones calcio es muy superior a la fisiológica. (12)

Resulta necesario seguir investigando en este campo tan amplio como es la biomineralización, del cual podremos obtener en un futuro estrategias potenciales fundamentales para la vida humana.

7. CONCLUSIONES

La biomineralización consiste en la formación controlada de sólidos inorgánicos en un organismo vivo. A diferencia de los minerales que encontramos en la naturaleza, los biominerales están constituidos por una parte inorgánica y otra orgánica que va a determinar las propiedades, el tamaño y la morfología de dicho biomineral.

No se trata solo de una precipitación química, sino de un proceso en el que se encuentran implicadas las células. Además, no siempre es una calcificación ya que los sólidos inorgánicos pueden tener componentes diferentes al calcio.

Posee numerosas funciones beneficiosas que ayudan a la mejora y supervivencia de los seres vivos pero también puede ser perjudicial alterando gravemente sus sistemas y funciones vitales. Las técnicas empleadas para el estudio de los biominerales son similares a las utilizadas en el resto de minerales inorgánicos, ayudando a su caracterización y permitiendo visualizar sus distintos componentes.

Hoy en día existen varias estrategias biomiméticas y aplicaciones en campos tan importantes y prometedores como son la mejora de vacunas y la terapia contra el cáncer.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Carratero MI, Pozo M. Mineralogía Aplicada: salud y medio ambiente [Internet]. Available from: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=X6aHoUtXW44C&oi=fnd&pg=PA3&dq=Biominales:+composicion+y+caracteristicas.+Litiasis&ots=iUVOGQY-k6&sig=bTDZkcFLC_hDA-fO3gkGssPtOK8#v=onepage&q=Biominales%3Acomposicion+y+caracteristicas.Litiasis&f=false
2. Riancho JA, Delgado-Calle J. Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto. *Reumatol Clín.* 2011;7(SUPPL.2):1-4.
3. Fesharaki O, Taboada-Trujols I, Sánchez-Pastor N. Biominerales del cuerpo humano. 2019;32(1):63-76.
4. Gómez-Ayala A-E. Litiasis renal. 2015;11(6):314-23.
5. Sánchez JC. Litiasis biliar (Gallstone). *Rev Médica Sinerg.* 2016;1(1):12-5.
6. Gómez Jaramillo D. Clasificación y fisiopatología de los cálculos biliares. *Univ Med Bogotá.* 2011;52(2):207-8.
7. Gilberto González V. Litiasis renal: estudio y manejo endocrinológico. *Rev Médica Clínica Las Condes* [Internet]. 2013;24(5):798-803. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0716-8640\(13\)70226-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0716-8640(13)70226-8)
8. Vega M, Vito M. Cálculos Renales o Nefrolitiasis. *Rev Actual Clínica* [Internet]. 2011;11:539-43. Available from: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=&lng=es&nrm=iso&tlng=
9. González Enguita C. Litiasis urinaria. *Medicine (Baltimore).* 2007;9(83):5342-50.
10. Grases F, Prieto RM, Costa-Bauzá A. Calcificaciones cardiovasculares: factores etiológicos implicados. *Cirugía Cardiovasc.* 2005;12(4):291-7.
11. Wiley CJ, All I. *Lessons from Nature in Regenerative Medicine.* 2012;
12. Yao S, Jin B, Liu Z, Shao C, Zhao R, Wang X, et al. Biomineralization: From Material Tactics to Biological Strategy. *Adv Mater.* 2017;29(14).
13. Erol M, Hum J, Boccaccini AR. Bioactive Nanocomposites Containing Silicate Phases for Bone Replacement and Regeneration. *Biomim Approaches Biomater Dev.* 2012;353-79.