



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**NUEVOS AVANCES EN INGENIERÍA DE
TEJIDOS**

Autor: María Dolores Pasillas Salas

Fecha: Convocatoria de Junio 2019

Tutor: Paloma Marina de la Torre Iglesias

Resumen

La ingeniería de tejidos es una disciplina emergente que ha supuesto un gran avance para la medicina regenerativa. Gracias a su desarrollo se han conseguido alternativas terapéuticas para numerosas enfermedades.

El objetivo principal de la ingeniería de tejidos es restaurar el tejido dañado con productos medicinales que combinan tres componentes: biomateriales, células y moléculas bioactivas.

En este trabajo se recogen terapias novedosas, basadas en esta disciplina, para el tratamiento de lesiones en el tejido cartilaginoso articular. Estas son el resultado de una exhaustiva investigación cuya meta es conseguir un *nuevo tejido funcional* que mimetice las características estructurales, mecánicas y funcionales del tejido original lesionado, de manera que este quede perfectamente restaurado.

Palabras clave: ingeniería de tejidos, cartílago, biomateriales

Índice

1. Introducción	2
1.1 Tejido del cartílago articular.....	2
1.2 Tratamientos tradicionales para lesiones del tejido cartilaginoso articular.....	4
2. Objetivos	6
3. Metodología	6
4. Resultados y discusión.....	7
4.1 Biomateriales	9
4.1.1 Hidrogeles	11
4.1.2 Matrices sólidas.....	12
4.2 Células	15
4.2.1 Condrocitos autólogos.....	15
4.2.2 Células madre mesenquimales (MSCs).....	15
4.3 Factores biológicos y ambientales. Moléculas bioactivas.	16
4.3.1 Moléculas bioactivas. Factores de crecimiento.....	16
4.3.2 Factores ambientales	17
5. Conclusión.....	17
6. Bibliografía.....	18

1. Introducción

La ingeniería de tejidos comenzó a crecer y evolucionar principalmente a partir de los años ochenta ⁽¹⁾, suponiendo un gran avance para la medicina regenerativa. Se trata de un campo de investigación multidisciplinar en el que se combinan los conocimientos y principios de la ingeniería y las ciencias biológicas, con el objetivo de desarrollar sustitutos biológicos que puedan restaurar, mantener y/o mejorar la función de los tejidos alterados ⁽²⁾. En las dos últimas décadas han aparecido nuevas terapias avanzadas para tratar enfermedades complejas, muchas de ellas crónicas, basadas en la ingeniería de tejidos.

Para afrontar el reto de regenerar o estimular la autoreparación de los tejidos u órganos dañados, esta disciplina recurre, en líneas generales, a la utilización de lo que los investigadores han denominado “La tríada de la ingeniería de tejidos” ⁽³⁾. Esto consiste en la asociación de biomateriales (soportes o matrices), células y/o moléculas biológicamente activas (p.ej factores de crecimiento), para dar lugar a los llamados tejidos u órganos funcionales. Los cuales, son considerados por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) como *Productos medicinales de terapias avanzadas* y definidos por la FDA (Food and Drug Administration, USA) como *Productos medicinales basados en células o tejido*, gracias a su efecto biológico una vez implantados en tejidos lesionados. Esto supone una alternativa novedosa a la hora de tratar ciertas lesiones y patologías como la artrosis, el accidente cerebrovascular isquémico o la esclerosis múltiple entre otras ⁽⁴⁾.

Por lo tanto, es evidente que la Ingeniería de tejidos es un área de estudio amplio y en constante evolución, con numerosas publicaciones que recogen los nuevos avances en dicha materia.

Uno de los tejidos más beneficiado de los últimos descubrimientos en ingeniería de tejidos es el tejido cartilaginoso. Esta memoria, reúne algunos de los avances actuales de ingeniería, relacionados con el tejido del cartílago hialino articular.

Debido a su capacidad limitada de auto-reparación frente a una lesión, la exitosa regeneración del tejido cartilaginoso articular se ha convertido en uno de los objetivos a desarrollar dentro de la ingeniería de tejidos en los últimos años. La incidencia de patologías degenerativas como la artrosis u otras lesiones del cartílago en articulaciones por traumatismos, desgaste, envejecimiento u otras enfermedades (p.ej cáncer); ha ido en aumento y por ello clínicos e investigadores en materia ortopédica han querido buscar nuevas técnicas que supongan una alternativa a los actuales tratamientos basándose en los principios de la ingeniería de tejidos.

Para entender los retos que persigue la investigación, es necesario, conocer las características de este tejido y el porqué de su complicada y muchas veces defectuosa reparación tras ser dañado.

1.1 Tejido del cartílago articular

El tejido cartilaginoso articular se trata de un tejido altamente especializado que encontramos en las articulaciones sinoviales (móviles) y en los extremos de los huesos largos. Por su composición y características fisicoquímicas tiene la función de proteger al hueso (hueso subcondral) amortiguando las presiones mecánicas y proporcionando una superficie lisa y lubricada que contrarresta el rozamiento entre los huesos durante el movimiento ⁽⁵⁾.

Es un tejido blando, por lo tanto, su componente mayoritario es el agua. Pero a diferencia de otros tejidos de este tipo se trata de un gel sólidamente estructurado y muy resistente. En él las únicas células son los condrocitos que están inmersos en una red tridimensional (matriz

extracelular) compuesta por agua, colágeno (predomina el colágeno de tipo II), proteoglicanos y glicosaminoglicanos (4).

La histogénesis del cartílago hialino articular comienza en el desarrollo embrionario con la condensación de las células mesenquimáticas comprometiendo su evolución hacia la línea condrocítica, células condrogénicas, estas tienen sólo la capacidad de dividirse. Al proliferar e incrementar su tamaño las células condrogénicas dan lugar a los condroblastos. Estos últimos mantienen la capacidad de división además de secretar todos los componentes para formar la matriz. El cartílago articular va madurando hasta llegar a la edad adulta. El resultado, es un tejido organizado en zonas: superficial o fibrosa, media, profunda y zona calcificada. La diferencia de la composición y estructura de la matriz extracelular en cada una de las zonas y las células presentes en las mismas, confiere las características anatómicas y funcionales necesarias para el cartílago.

La *zona superficial*, es la más externa y se encuentra en contacto con el líquido sinovial, por lo tanto, actúa como protector frente a las fricciones; está constituida por fibras de colágeno (tipo II y IX, principalmente) muy finas dispuestas de forma tangencial o paralela a la superficie articular, con un escaso contenido en proteoglicanos y condrocitos aplanados. La *zona media* está constituida por fibrillas de colágeno más grandes y orientadas al azar, junto con condrocitos esféricos rodeados de una abundante cantidad de proteoglicanos (el agregano es el mayoritario); se trata de una zona de transición entre zonas, superficial y profunda, que abarca la mayor parte del tejido (40-60% del volumen total del cartílago). La *zona profunda* es la responsable de resistir las fuerzas de compresión, contrarrestando las presiones mecánicas. Es una capa del cartílago en la que las fibras de colágeno son más gruesas y cuya disposición es perpendicular (radial) a la superficie articular; el contenido en proteoglicanos es el más elevado de las tres zonas y en cambio el contenido en agua el menor. Por último, al observar un corte histológico teñido con hematoxilina y eosina se distingue lo que se conoce como la *zona calcificada*. Es una capa que tiene un papel primordial en el anclaje del cartílago en el hueso, a través de fibrillas de colágeno el hueso subcondral y la capa profunda del cartílago hialino(6).

Por otro lado, hay que remarcar que una de las características más significativas del tejido cartilaginoso hialino articular es la falta o carencia de vasos sanguíneos y nervios. Es decir, es un tejido que se nutre por difusión de las sustancias procedentes del líquido sinovial.

De manera que al tratarse de un tejido avascular, aneural, alinfático y con un contenido escaso celular; en el que las células que lo integran son de un sólo tipo (condrocitos) con una limitada capacidad de división y movimiento. El tejido cartilaginoso tiene una repuesta incompleta de regeneración tras una lesión, es incapaz de contrarrestar las fuerzas que destruyen el tejido (8).

Cuando el tejido cartilaginoso articular se daña, los condrocitos que tienen una movilidad reducida y son incapaces de llegar hasta el sitio donde se ha producido la lesión, así que los únicos que pueden participar en la reparación del tejido son aquellos que se encuentran cercanos a ésta. Las células condrogénicas por tanto se activan y generan un nuevo cartílago pero no el suficiente como para cubrir todo el espacio de la lesión. Es entonces cuando el

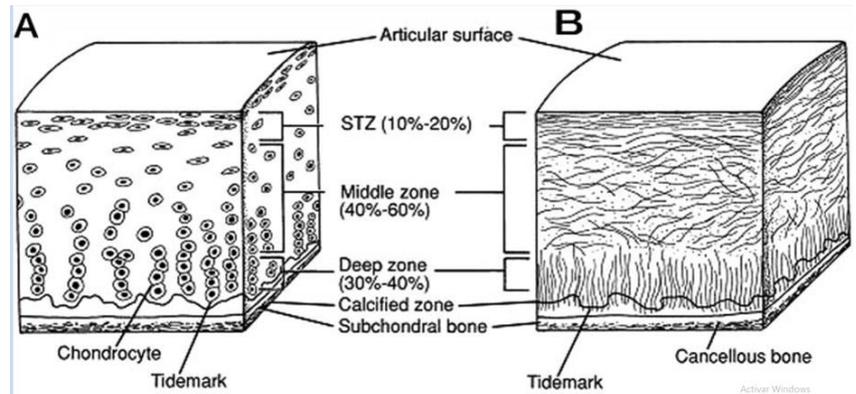


Figura 1: Esquema de un corte seccional de un tejido articular sano. A, es la organización celular en zonas. B, es la arquitectura del cartílago.(6)

tejido dañado es remplazado no por un nuevo cartílago sino por tejido conjuntivo, denso y fibroso e irregular (tejido cicatricial) no funcional.

Por otro lado, no podemos olvidar que la irritación sinovial, la inflamación y los procesos de remodelación del hueso dan lugar a un desgaste desigual de la superficie articular que acelera e incrementan la lesión del cartílago.

En resumen, podría decirse que mientras los condrocitos son los responsables del mantenimiento y síntesis de la matriz extracelular. En conjunto, la homeostasis del cartílago, se cree que es producto de una compleja interacción entre los movimientos articulares, factores de crecimiento, hormonas y la edad (7).

1.2 Tratamientos tradicionales para lesiones del tejido cartilaginoso articular

Enfermedades, traumas o el envejecimiento, que provocan la destrucción interna del cartílago en la mayoría de los casos, necesitan de tratamientos complementarios que ayuden a los mecanismos de autocuración del cartílago a reparar el tejido dañado.

Las opciones en clínica para tratar las lesiones del cartílago son numerosas. El problema que tienen la mayoría de los tratamientos utilizados hasta la fecha, es que están dirigidos a aliviar los síntomas de la lesión a corto plazo, pero no llegan a alcanzar la meta de reparar el tejido hasta el punto de recuperar las características mecánicas y anatómicas anteriores al daño (7). Por lo tanto, podría decirse que los tratamientos actuales más utilizados en clínica, no son lo suficientemente eficaces regenerando el tejido, y su resultado con el tiempo es malo.

En la tabla a continuación (tabla 1) se recogen las terapias disponibles actualmente en la clínica para las lesiones del cartílago (7). Sobre todo, son empleadas para tratar los daños en el cartílago articular de la rodilla. Están en orden creciente según lo invasivas que sean. Además, los primeros tratamientos de la tabla son aquellos enfocados a tratar lesiones sencillas y los últimos a las más complicadas.

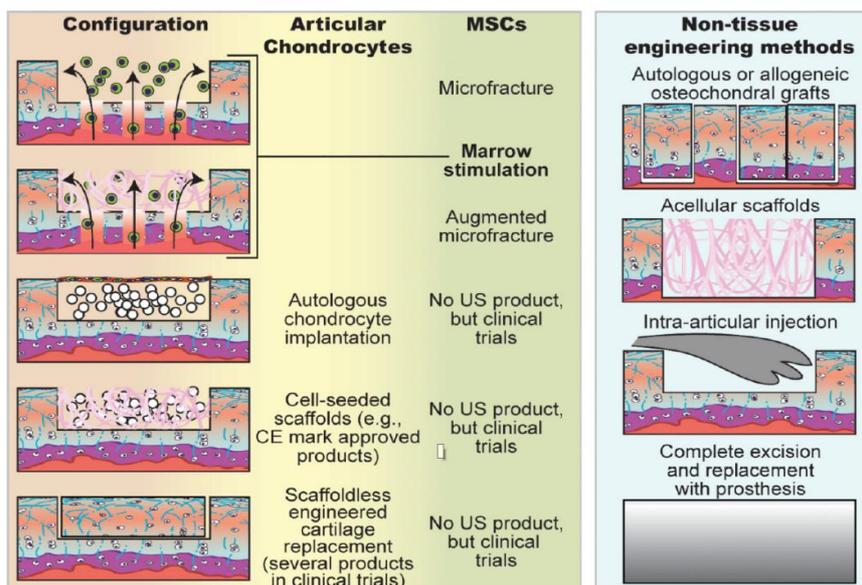


Figura 2: Estrategias terapéuticas para la regeneración del cartílago. (12)

Tabla 1: Actuales opciones en Clínica para el tratamiento de lesiones del cartílago. (7)

Tratamiento	Descripción	Beneficios	Limitaciones
No quirúrgico	Analgésicos orales, pérdida de peso y fisioterapia. Además de hábitos de vida saludables.	Evita la cirugía	Sólo enmascara los síntomas. Hace al paciente depender de forma crónica de la medicación

Tratamiento	Descripción	Beneficios	Limitaciones
Condroplastia artroscópica	Es una intervención quirúrgica mínimamente invasiva, en la que se elimina o retira pequeñas porciones del tejido dañado, con ayuda de un artroscopio, suavizando la superficie articular de manera que se disminuye la irritación mecánica y el cartílago puede crecer sano y en su lugar.	Cirugía ambulatoria sencilla, cuyo tiempo de recuperación es más rápido que otros procesos quirúrgicos.	Sólo enmascara los síntomas. Y es una solución a corto plazo. Tratamiento paliativo.
Técnicas de estimulación medular: Microfractura, abrasión o perforación	Se trata de una intervención quirúrgica sencilla, en la que se utiliza el artroscopio; y cuya técnica consiste en romper, raspar o agujerear, respectivamente, el hueso subcondral (hueso que subyace al cartílago) con la intención de liberar (arrastrar) las células progenitoras de condrocitos capaces de producir cartílago de cualquier tipo, también fibrocartílago.	Es una técnica poco invasiva, que no requiere de trasplantes de tejido simplemente de los instrumentos comunes de una cirugía. Suele ser usada para lesiones de < 2,5 cm ²	La formación de fibrocartílago en el interior del cartílago hialino afecta a las características biomecánicas de la articulación, y por lo tanto pérdida de sus funciones a largo plazo. Tratamiento reparativo a corto plazo.
Mosaicoplastia/ autoinjerto osteocondral	Técnica en la que se reimplanta pequeños trozos de hueso y cartílago(injertos)extraídos del propio paciente para restaurar el tejido lesionado.	Al ser del propio paciente el injerto es aceptado de mejor manera por el paciente e integrado teóricamente de forma óptima en el cartílago.	El injerto no es capaz de mimetizar las características mecánicas del cartílago original. Por lo tanto, podría decirse se esta técnica lleva asociada el incremento de la morbilidad, debido a su falta de integración con el tejido subyacente. No se utiliza para lesiones graves.
ACI (Implante de condrocitos autólogos)	Tratamiento cuya técnica consiste en extraer condrocitos del propio paciente, cultivarlos y reimplantarlos en el tejido dañado.	Es capaz de producir tejido cartilaginoso hialino, reparando lesiones de 2-10 cm ²	Necesita de más tiempo de cirugía y recuperación. Tiene riesgo de complicaciones frecuentes como la hipertrofia de la membrana de periostio o la delaminación (por la falta de integración del nuevo tejido al ya presente).
Aloinjerto osteocondral	Terapia que consiste en colocar un injerto procedente de otro individuo.	Es capaz de reparar grandes lesiones y por lo tanto no aumentan la morbilidad.	Al tratarse de un trasplante donde el injerto que se utiliza proviene de un individuo que no es el paciente, se debe tener en cuenta la compatibilidad entre los tejidos de ambos. No solo habrá que tener en cuenta que no se produzca un rechazo por parte del paciente y sea lo más similar posible, sino que también el tejido que extraemos para trasplantar sea el suficiente como para reparar la lesión. Además, tenemos que tener en cuenta que, durante el almacenaje del injerto, la viabilidad de las células que lo componen puede verse comprometida. De forma que su función regeneradora una vez implantado es cuestionable.

Tratamiento	Descripción	Beneficios	Limitaciones
Artroplastia articular	Consiste en la reconstrucción de la articulación destruida o anquilosada, a través de una operación quirúrgica en la que se realiza una resección de las superficies articulares y se coloca una prótesis normalmente de metálica (p.ej. cobalto-cromo) con el fin de recuperar la función del cartílago y así suprimir el dolor.	Alivia el dolor y permite a la articulación realizar su función sin cartílago.	Devuelve a su función a la articulación, pero con limitaciones. Ya que no se recrea completamente las características anatómicas y mecánicas que poseía el cartílago original de la articulación. Puede haber infecciones, por contaminación de la prótesis. Además, hay que tener en cuenta el desgaste que sufre la prótesis a lo largo del tiempo, lleva a una nueva operación quirúrgica.

El tratamiento ideal para curar una lesión del cartílago articular sería: aquel que restableciera las propiedades mecánicas que permiten al tejido cartilaginoso hialino articular ser ese tejido excepcional que reduce la fricción entre los huesos y amortigua la sobrecarga de la superficie articular en el movimiento; con la capacidad de resistir al desgaste del paso del tiempo ya que consigue repoblar de forma completa la lesión con condrocitos, y estos a su vez son capaces de producir la matriz extracelular, dando lugar a un nuevo tejido que se integra perfectamente en el cartílago original subyacente al tejido dañado⁽⁷⁾.

Podría decirse que la meta o el reto que se plantea la medicina a la hora de tratar un cartílago dañado, es el de regenerar de forma intrínseca, completa y permanente en el tejido lesionado. Así pues, el desarrollo de la ingeniería de tejidos ha permitido a la medicina regenerativa evolucionar y avanzar hacia dicha meta.

2. Objetivos

El propósito de este trabajo es recopilar nuevas estrategias en materia de medicina regenerativa que podrían ser empleadas como alternativa a los tratamientos tradicionales. En concreto, esta memoria reúne los avances, hasta la fecha, desarrollados en Ingeniería de tejidos sobre la regeneración del cartílago en humanos. Lo que se pretende realizar es una descripción de técnicas innovadoras que utilizando los principios de la ingeniería de tejidos buscan desarrollar tejido cartilaginoso nuevo que sustituya al lesionado. A partir de la revisión de componentes y materiales utilizados hasta el momento.

3. Metodología

El trabajo realizado ha consistido en una revisión bibliográfica de artículos de libre acceso publicados en las bases de datos: ScienceDirect, PubMed y Google Scholar. Para llevar a cabo la búsqueda de manera sistemática estableciéndose los siguientes criterios de inclusión: se seleccionaron aquellas publicaciones con textos completos y cuya antigüedad no excediese los 5 años. Al buscar se utilizaban palabras clave como: “tissue engineering”, “Cartilage”, “Cartilage repair”, “Chondrocytes”, “biomaterials”, “Scaffold”, “Mesenchymal stem cells”, “Osteoarthritis”, “Bi-layer Scaffold” “cartilage injuries”. Además, con ayuda de la tutora desde la página de la Biblioteca de la Universidad Complutense (BUCEa) se pudo acceder a los artículos de no libre acceso, que completaron la revisión profunda sobre el tema.

4. Resultados y discusión

Las lesiones del cartílago en humanos han experimentado un crecimiento significativo en los últimos años. Al aumentar la esperanza de vida, las enfermedades musculoesqueléticas y de las articulaciones debidas al envejecimiento son, actualmente, una de las mayores causas de morbilidad en el mundo y suponen un enorme gasto para los Sistemas de salud y Seguridad Social en los países. Las enfermedades inflamatorias crónicas de las articulaciones, como la artritis, es una de las de las 5 primeras causas de discapacidad en adultos (Centers for Disease Control and Prevention; CDC; <http://www.cdc.gov/>, USA)⁽⁹⁾.

Por esto, es lógico que especialidades como la ortopedia, la traumatología, la reumatología o la medicina deportiva busquen nuevas técnicas para tratar estas lesiones. De manera que, se disminuya la discapacidad ocasionada por las patologías osteoarticulares con un tratamiento eficaz; y/o se reduzca la aparición de las mismas.

La ingeniería de tejidos es una disciplina que, con su investigación y desarrollo dentro de la medicina regenerativa, ha supuesto un gran beneficio para el tratamiento de lesiones osteoarticulares. Los nuevos avances en esta materia emergente pretenden dar solución a las limitaciones de los tratamientos tradicionales de reparación del cartílago: insuficiente capacidad de reparación o regeneración del tejido dañado, escasa integración con el tejido subyacente o la dependencia de encontrar un donante compatible en el caso de los trasplantes alogénicos.

Las nuevas estrategias en medicina regenerativa para tratar las lesiones del cartílago, utilizan los principios de la ingeniería de tejidos para conseguir la creación de un *tejido funcional nuevo* que mimetice las características histológicas, bioquímicas y biomecánicas del tejido cartilaginoso dañado.

Basándose en la terapia celular y el desarrollo de biomateriales, la ingeniería de tejidos quiere llegar a conseguir una nueva alternativa que estimule la reparación “in situ” del cartílago lesionado ⁽¹⁰⁾

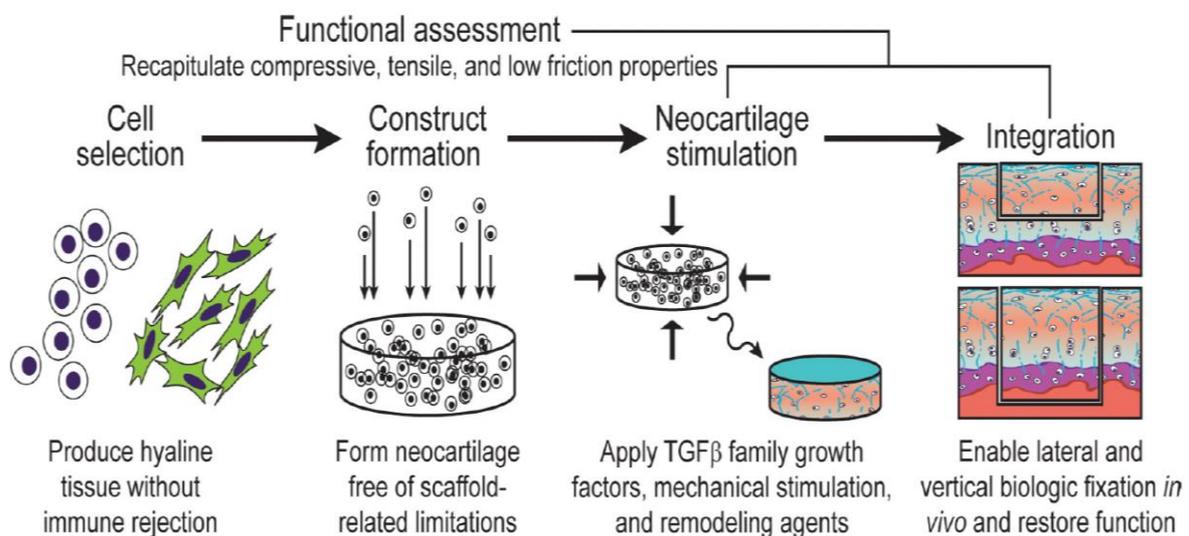


Figura 3: Esquema del desarrollo del neocartílago en ingeniería de tejidos. ⁽¹²⁾

La meta que persiguen los ingenieros e investigadores: un neocartílago que sea capaz de:

1. Integrarse no sólo con el hueso subcondral de la articulación, sino también con el tejido cartilaginoso adyacente permitiendo a la articulación realizar su función de distribución estable de las cargas y el soporte mecánico en el movimiento.
2. Tener, gracias a su estructura perfectamente organizada, las mismas propiedades mecánicas que el tejido cartilaginoso natural adyacente y así evitar el desgaste del tejido producido por la disparidad de tensiones.
3. Soportar las carga durante las deformaciones y movimientos.

Por lo tanto, es todo un reto el poder desarrollar este neocartílago que reemplace y sane “in situ” el tejido dañado, y que dicha reparación del tejido perdure en el tiempo.

Además para lógralo, la ingeniería de tejidos debe hacer frente a varios obstáculos como: la limitada capacidad de autoreparación del tejido cartilaginoso; la importante organización estructural del mismo y las propiedades mecánicas que derivan de esta; la compleja integración del tejido cartilaginoso con el tejido óseo adyacente (tejido subcondral); o el estrés ambiental que envuelve el tejido lesionado y que fomenta la destrucción del tejido (11)

Así pues, las nuevas técnicas consisten en utilizar productos medicinales que combinan estructuras tri o bidimensionales (biomateriales), células y factores estimulantes de la condrogénesis u otros que permitan el crecimiento, mantenimiento o integración de los condrocitos.

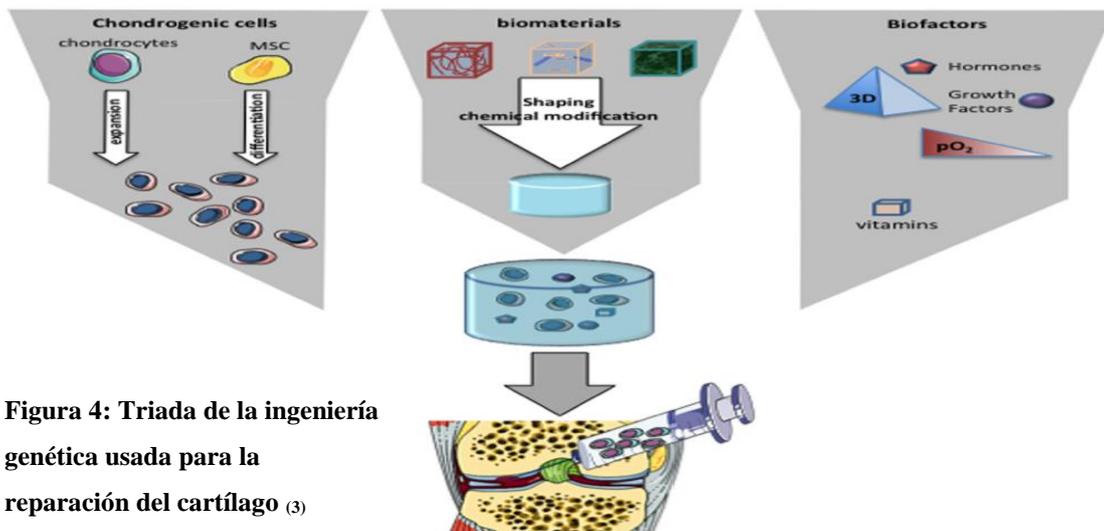


Figura 4: Triada de la ingeniería genética usada para la reparación del cartílago (3)

El estudio sobre nuevos productos medicinales para la regeneración del tejido cartilaginoso hialino, está enfocado hacia 5 áreas:

1. Definir y optimizar la fuente de células, condrocitos.
2. Estudiar la interacción entre el tejido cartilaginoso articular y los biomateriales. Además de estudiar la degradación de estos.
3. Identificar y aplicar estímulos nuevos.
4. Estudiar sobre la construcción “in situ”, maduración, características biomecánicas y la funcionalidad del tejido nuevo regenerado, a partir de la utilización de los productos medicinales creados.

5. Desarrollar estrategias que mejoren las técnicas de implantación, fijación y los métodos de rehabilitación.

4.1 Biomateriales

En ingeniería de tejidos las células se siembran sobre unas estructuras que tienen el objetivo de replicar las características de la matriz extracelular del tejido diana en cuestión. Estas se cultivan *in vitro* (0-35 días) y después se implantan. (11)

Los biomateriales son un elemento clave en el desarrollo de tejidos funcionales. Son estructuras diseñadas por la ingeniería de tejidos con las funciones de facilitar la expansión del número celular (proliferación); dirigir la proliferación y diferenciación celular (organización del tejido); permitir y fomentar la acción secretora que permite la formación de la matriz del tejido; además de facilitar una correcta integración del injerto en el tejido que se quiere reparar.

Se han diseñado soportes variados, tanto en los materiales utilizados como en estructura, buscando conseguir el biomaterial ideal que presentaría los siguientes requisitos: (13)

1. Biocompatible. Para prevenir la respuesta inflamatoria y/o reacción inmunológica frente al implante.
2. Biodegradable. Tiene que ser una estructura capaz de integrarse en el proceso fisiológico de remodelación del tejido. De manera que con el paso del tiempo, el biomaterial ha desaparecido pero el tejido está perfectamente regenerado.
3. Permeable. El material utilizado debe tener la porosidad adecuada (100µm-300µm) para permitir la difusión de moléculas, nutrientes y factores de crecimiento.(7)
4. No citotóxico.
5. Mecánicamente estable. Tiene que imitar las cualidades fisicoquímicas del tejido.
6. Ser condro-conductivo, es decir, que sea capaz de soportar y facilitar la proliferación de los condrocitos. Debe proporcionar un ambiente favorable para que las células mantengan el fenotipo (condrocitos) y que permita la adhesión correcta de las mismas al tejido lesionado, regenerándolo.
7. Versátil.
8. Fácil de conseguir y disponible.
9. Fácil de fabricar o elaborar.
10. Fácil de administrar. Lo ideal es que se tratase de un biomaterial inyectable, permitiendo que la implantación sea mínimamente invasiva.

Con los avances en ingeniería, la investigación se está acercando cada día más a conseguir este biomaterial ideal.

Actualmente podemos clasificar los biomateriales según su composición en biomateriales naturales, sintéticos, o bien, una combinación de ambos. Debemos remarcar que la naturaleza química del material utilizado condiciona la interacción con las células que se van a implantar.

En la siguiente tabla [tabla 2] se recogen las principales matrices utilizadas en la ingeniería del tejido cartilaginoso hialino articular.

Por otro lado, también podemos hacer una clasificación de los biomateriales según la estructura de la matriz que forman. Distinguiendo matrices cuya base es un hidrogel (estructura microporosa) y matrices con una estructura sólida macroporosa. La porosidad de la matriz

formada, como se ha dicho anteriormente, tiene un papel clave en el desarrollo del neocartílago; y en la degradación y remodelación del biomaterial con el paso del tiempo.

Tabla 2: Principales matrices utilizadas en ingeniería del tejido cartilaginoso articular.

Tipo		Componentes	Nombre del producto comercial
Naturales	Matrices de base proteica	Colágeno	MACT [®] ; Maix [®] ; Chondro-Gide [®] Atelocollagen [®] ; NeoCart [®] ; Novocart [®] 3D
		Fibrina	Tissucol kit [®] ; BioCart TM [®]
		Seda	
	Polisacáridos	Ácido hialurónico	HIAFF-11 [®] ; Hialograft-C [®]
		Chitosan/glicerol	BST-CarGel [®]
		Celulosa	CARTIPATCH [®]
		Alginato-agarosa	
	Sintéticos		Ácido poliláctico (PLA)
Polietilenglicol (PEG)			Gelrin C [®]
Copolímero del ácido poliláctico y el ácido poliglicólico (PLA/PGA)			BioSeed [®] -C
Combinación de materiales		Colágeno equino con hidroxiapatita enriquecida con magnesio	MaioRegen [®]
		Polímero compuesto por PLA/PGA, sulfato de calcio	TruFit TM
		Carbonato cálcico (CaCO ₃) cristalizado en forma de Aragonito combinado con ácido hialurónico	Agili-C TM
		PLA/PEG/G5(cristal bioactivo compuesto por P ₂ O ₅ -CaO-Na ₂ O-TiO ₂)	

4.1.1 Hidrogeles

Se trata de polímeros de naturaleza hidrofóbica que forman una red tridimensional capaz de retener/absorber una gran cantidad de agua. Son materiales que dan lugar a una matriz microporosa, en forma de gel ⁽¹⁴⁾.

La medicina regenerativa al empezar a utilizarlos como matrices o soportes en el tratamiento de lesiones osteocondrales, se dió cuenta de que se trataba de biomateriales con un gran potencial en la ingeniería de tejidos.

Las ventajas que presentan los hidrogeles son ⁽⁵⁾:

- a) Las características mecánicas son similares a las del cartílago articular. Dan lugar a una amortiguación y lubricación el movimiento parecido a la que realiza el cartílago original.
- b) Su naturaleza viscoelástica facilita la distribución de las cargas mecánicas.
- c) Permite que las células mantengan su morfología esférica, característica del fenotipo de los condrocitos.
- d) La composición acuosa del biomaterial, es muy parecida a la cantidad de agua que compone la matriz extracelular del tejido cartilaginoso.
- e) Gracias a su estructura en gel es posible la difusión de sustancias bioactivas, nutrientes y factores de crecimiento.
- f) Inyectable por su naturaleza en gel, esto facilita la inserción del producto de forma mínimamente invasiva a través de una artroscopia. Suelen utilizarse para tratar lesiones focalizadas del cartílago.

Los materiales utilizados para formar estos hidrogeles son: colágeno, fibrina, alginato-agarosa, ácido hialurónico o polímeros sintéticos como el Polietilenglicol (PEG), entre otros.

Entre los últimos avances de ingeniería de tejidos, los científicos e ingenieros han estado desarrollando nuevos hidrogeles mezclando o fusionando distintos biomateriales, con el objetivo de lograr matrices que repliquen las propiedades estructurales y funcionales del cartílago. Para sintetizarlos se utiliza tecnología novedosa, Bioimpresión 3D con *Bio degradable Ink Jet film*. Aun así, todavía la ciencia no ha conseguido replicar las complejidades del nicho Condrogénico.

En este trabajo se recoge un breve apunte sobre 4 productos medicinales que cuentan con un hidrogel como biomaterial.

- I. **Gelrin C[®]** (Regentis, Haifa, Israel): es utilizado en clínica. Compuesto por un hidrogel fotopolimerizado de Polietilenglicol diacrilato. Se trata de un biomaterial bioadsorbible que se une al fibrinógeno y se destruye en 6-12 meses ⁽¹⁵⁾. Al inyectarse en microfracturas se polimeriza “in situ”. “In vitro” el Gelrin[®] tiene un potencial condrogénico y osteoconductor, no presenta una respuesta inmunológica, y además se ha demostrado que facilita y promueve la síntesis de colágeno tipo II y proteoglicanos.⁽⁷⁾
- II. **BTS-CarGel[®]** (Piramal Healthcare, Aurora, ON, Canada): hidrogel compuesto por un copolímero de Chitosan/ β -glicerolfosfato. El producto resultante ha presentado significantes ventajas clínicas pero todavía se encuentra en Fase III en ensayos clínicos ⁽¹⁶⁾.

- III. **CARTIPATCH®**: es un hidrogel compuesto por agarosa-alginato, en el que los condrocitos se encuentran suspendidos y permanecen metabólicamente activos durante 8 meses (11). Este biomaterial presenta inconvenientes como las limitadas propiedades mecánicas, es inmunógeno, poco biocompatible y hay que remarcar que la agarosa no es biodegradable. Se encuentra en Fase III de la FDA (4).
- IV. **CaReS®** (Arthro Kinetics Biotechnology, Krems, Austria): el nombre del producto corresponde a la abreviatura de *The Cartilage Regeneration System*, consiste en un implante compuesto por un hidrogel de colágeno tipo I en el que se encuentran embebidos condrocitos autólogos (11).

4.1.2 Matrices sólidas

En este grupo los biomateriales son muy variados. Encontramos desde láminas sencillas hasta estructuras tridimensionales multicapa; formados a partir de compuestos naturales, sintéticos o bien, una combinación de ambos.

Dentro de los naturales tenemos productos medicinales como **MACI®** (Verigen, Leverkusen, Alemania), **Maix®** (Matricel, Hezzenrath, Alemania) y **Chondro-Gide®** (Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Switzerland) que están compuestos por matrices proteicas formadas por membranas de colágeno tipo I/III de origen animal, sobre las que están sembradas condrocitos autólogos.(17)

Son matrices que gracias a su características microestructurales permiten que las células sembradas se adhieran a sus fibras evitando la pérdida de las mismas cuando se coloca el producto en la lesión. Además son biomateriales biocompatibles; biodegradables; con baja inmunogenicidad; con capacidad para producir la adhesión, diferenciación y proliferación celular, pero a la vez son matrices que reducen la hipertrofia del injerto en lesiones del cartílago; y han demostrado que al cultivarse *in vitro* mantiene la viabilidad celular y el fenotipo de los condrocitos sembrados en ellos. Todas estas características hacen que este tipo de biomateriales sea popular en terapias de regeneración de tejidos. Pero el inconveniente que tienen es la presencia de colágeno tipo I, que disminuye la actividad biosintética de los condrocitos, dando lugar a un tejido con morfología fibroblastoide. La producción de colágeno tipo I en vez del tipo II forma una red fibrótica que provoca la pérdida de las características elásticas y amortiguadoras propias del cartílago hialino. (4)

Otros productos medicinales con biomateriales de naturaleza proteica son:

- **NeoCart®** (Histogenics, Waltham, MA) compuesto por condrocitos autólogos sembrados en una membrana de colágeno tipo I. Presenta el mismo problema de fibrosis que los productos descritos anteriormente. Por eso es una solución de la lesión a corto plazo, pero a largo plazo no se consigue los resultados requeridos.(7)
- El **Novocart® 3D** (TETEC, Melsungen, Germany) aunque también de naturaleza proteica presenta una estructura matricial con una complejidad mayor. Compuesto por una matriz bifásica de colágeno tipo I en la que están sembrados condrocitos autólogos. Una de las capas está formada por cartílago descelularizado que proviene del tratamiento del pericardio bovino, es una capa densa celularmente impermeable. La otra capa está formada por una matriz esponjosa de colágeno.(11)

Además de los biomateriales compuestos por proteínas de la familia del colágeno, dentro de los biomateriales de origen natural encontramos los biomateriales cuyo componente principal es el ácido hialurónico.

El ácido hialurónico es un componente de la matriz extracelular del cartílago humano. Un polisacárido capaz de ser utilizado por la ingeniería de tejidos como soporte de condrocitos autólogos. Tiene la ventaja de ser un material que se reabsorbe por completo a los 3 meses, dando lugar al hialuronano, molécula bioactiva responsable de la diferenciación condrogénica y el aumento de la síntesis de agregano y colágeno de tipo II con descenso de síntesis de colágeno tipo I. A pesar de que los buenos resultados sobre la regeneración del tejido cartilaginoso, el inconveniente de este tipo de biomateriales es un citotoxicidad, ya que en su degradación dan lugar a compuestos que pueden ser perjudiciales para el organismo. Por esta razón, no estaban disponibles en Norte América y en Europa fueron recientemente retirados del mercado (7); y aquellos pacientes en los que fueron utilizados dichos productos se han tenido que someter a un control. Destacamos en esta memoria dos productos cuyo biomaterial es el ácido hialurónico: **HIAFF-11**[®] (Fidia Advanced Biopolimers, Abano Terme, Italia) y **Hialograft-C**[®] (Anika Therapeutics, Bedford, MA)

En esta misma línea encontramos el **BioCart II**[™] (Histogenics, Waltham, MA). Éste es un producto medicinal compuesto por un soporte de Fibrina y Ácido hialurónico en el que están sembrados condrocitos autólogos. Se trata de una terapia que todavía se encuentra en fase II de la FDA (11). La combinación del ácido hialurónico con la fibrina, hace que la matriz además de tener las características para que las células mantengan su fenotipo y se estimule la producción de la matriz celular, sea capaz de estimular a los condrocitos para que secreten las proteínas que degradan y recambian el cartílago dañado.(4)

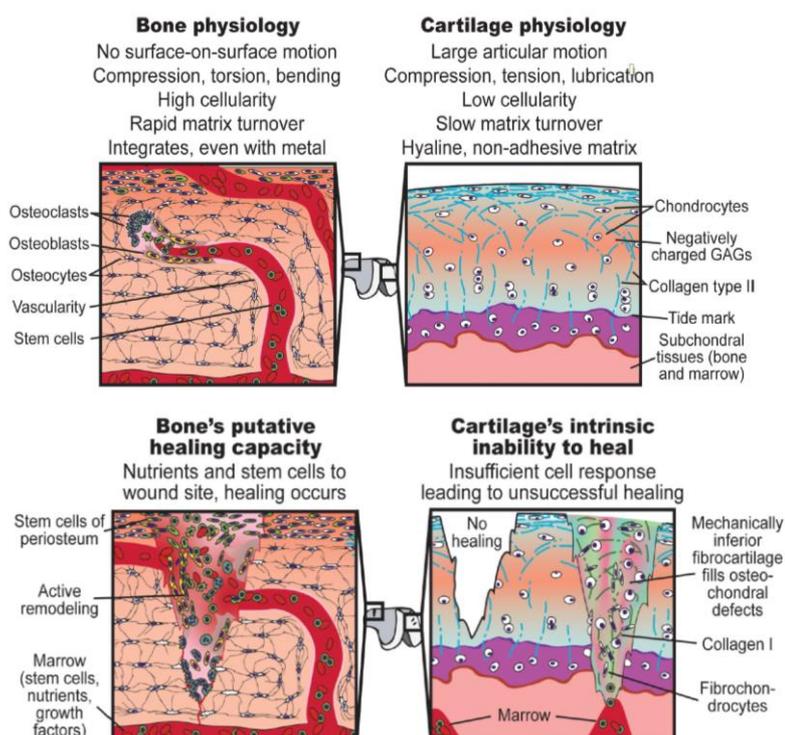
Por otro lado, tenemos los biomateriales sintéticos. Estos tienen la ventaja de no desencadenar una respuesta inmunológica y las propiedades químicas y mecánicas pueden ser diseñadas a medida.

Bio-Seed[®]- C (BioTissue Technologies, Freiburg, Alemania) es biomaterial sintético sembrado con condrocitos autólogos que ha resultado ser un tratamiento efectivo de lesiones articulares que han progresado hacia artrosis.(4) Su soporte está compuesto por un copolímero de ácido poliláctico (PLA) y ácido poliglicólico (PGA).

Los inconvenientes que presentan los biomateriales sintéticos es la inflamación o citotoxicidad fruto de sus productos de degradación; y la dificultad que tienen para integrarse de forma correcta en el tejido. Para superarlos, la ingeniería de tejidos ha desarrollado biomateriales combinados que intentan reducir esa respuesta inflamatoria (matriz biodegradable); y que aumenten la biocompatibilidad.

Es cierto que, uno de los grandes retos a los que la ingeniería de tejidos se enfrenta, es la regeneración del tejido osteocondral completo. Es decir, desarrollar una terapia capaz de reparar tanto el tejido del hueso subcondral como el tejido cartilaginoso, manteniendo la compleja interacción entre ambos tejidos, la composición y propiedades biomecánicas de cada uno de ellos.

Hay que recordar, que cada tejido tiene sus propias necesidades para la regeneración.



Empezando por las distintas células que van a participar en ella: en el caso del hueso los osteoblastos u otras células precursoras, y en algunos casos células endoteliales; mientras que el cartílago utiliza condrocitos. Por otro lado, las necesidades nutricionales (oxígeno) son distintas, ya que el tejido óseo es un tejido muy vascularizado, y en cambio el cartilaginoso es avascular y su crecimiento se desarrolla en un ambiente de hipoxia.

Por estas diferencias entre tejidos, los avances en ingeniería de tejidos pretenden diseñar un biomaterial multifásico capaz de regenerar de manera simultánea cartílago y hueso subcondral, con una reabsorción al mismo tiempo.

Estos biomateriales multicapa forman dos nichos diferentes para que la reparación de cada uno de los tejidos, sea óptima. Son sintetizados por medio de técnicas avanzadas como la Bioimpresión 3D, que permite el diseño y elaboración controlada de cada una de las capas del biomaterial.⁽¹⁸⁾

En esta memoria recogemos 4 biomateriales multicapa que están en desarrollo y que persiguen este objetivo de regeneración osteocondral completa.

- Biomaterial cuya matriz está formada por una bicapa que combina una capa polimérica de PLA con una capa bifásica (PLA/G5). Esta última, está compuesta por la mezcla de PLA con un sustituto sintético del hueso cuyo componente principal es el fosfato de calcio. Consiste en un biocristal conocido como G5 (P_2O_5 , CaO-Na₂O- TiO₂) que tiene un potencial angiogénico. ⁽¹⁸⁾ Además se puede modificar la matriz polimérica de PLA con PEG que modulando la degradación y mejorando las cualidades superficiales de la matriz.⁽¹⁹⁾
- **MaioRegen[®]** (Finceramica, Faenza, Italy): biomaterial multicapa cuya estructura es una biocerámica compuesta por fibras de colágeno tipo I e hidroxiapatita enriquecida con Magnesio. Es un producto trifásico que imita la estructura natural del cartílago y el hueso subcondral: la capa superior está formada completamente por colágeno tipo I e imita la matriz extracelular cartilaginosa; la capas intermedia e interna combinan el colágeno con la hidroxiapatita siendo la proporción en colágeno superior en la intermedia.⁽¹⁰⁾
- **TruFitTM** (Smith & Nephew, Andover, MA): es un biomaterial bicapa compuesto por una estructura semiporosa de PLA/PGA combinada con sulfato de calcio. Aunque en los resultados en regeneración del cartílago auricular fueron buenos, los resultados en el cartílago articular de la rodilla no han sido las esperadas. En un estudio realizado (Dhollander et al. 2012) se observó que 3 de cada 15 pacientes un año después de recibir el tratamiento presenta vascularización en el tejido reparado. ⁽¹⁰⁾
- **Agili-CTM** (CartiHeal Ltd, Israel): biomaterial bicapa cuya estructura cilíndrica esta sintetizada a partir de aragonito combinado con ácido hialurónico. Es un material sintetizado que ha presentado un gran potencial restaurativo intrínseco y es biodegradable.

4.2 Células

Las estrategias alternativas para el tratamiento de lesiones del tejido cartilaginoso hialino articular propuestas por el desarrollo de la ingeniería de tejidos, están basadas en la terapia celular.

La reconstrucción del tejido dañado se hace utilizando implantes celulares que en un soporte y con los estímulos químicos (citoquinas) y mecánicos adecuados, promueven la condrogenésis y mantienen la función secretora de los condrocitos y su fenotipo.

Las fuentes celulares más utilizadas en estas terapias avanzadas son los condrocitos autólogos y las células madre mesenquimales (MSCs, Mesenchymal stem cells).

4.2.1 Condrocitos autólogos

Los condrocitos son las células propias del tejido cartilaginoso, responsables de secretar los productos necesarios para la síntesis de la matriz extracelular. Por lo tanto, es lógico que sean elegidas por la ingeniería para el desarrollo de implantes para la regeneración del cartílago.

Los condrocitos son aislados a partir de varias fuentes: cartílago articular, del tabique nasal o bien del costal o del auricular. Sin embargo, los condrocitos derivados de estos dos últimos cartílagos provienen de un tejido cartilaginoso elástico, que tiene unas propiedades mecánicas distintas al hialino presente en las articulaciones y el tabique nasal, por esto es preferente aislar los condrocitos de tejido cartilaginoso hialino.

Además, debemos remarcar la idea de que los condrocitos se obtienen del mismo paciente (condrocitos autólogos). Así minimizamos las complicaciones inmunológicas de histocompatibilidad. Pero el problema es que muchas veces la fuente es escasa debido a las lesiones del cartílago, como puede pasar en patologías como la artrosis.

El riesgo que tiene el uso de implantes de condrocitos autólogos, es la hipertrofia, la delaminación o bien la artrofibrosis. Para disminuirlo la investigación está desarrollando productos medicinales que siembran estos condrocitos autólogos en biomateriales diseñados para controlar la proliferación, mantener el fenotipo del condrocito y facilitar la síntesis de la matriz extracelular. Además de en algunos casos añadir moléculas bioactivas que favorezcan la regeneración del tejido, manteniendo la viabilidad de los condrocitos y sus propiedades funcionales. (5,9)

4.2.2 Células madre mesenquimales (MSCs)

Por la limitación que pueden presentar los implantes de condrocitos autólogos, la investigación está estudiando y desarrollando terapias celulares de regeneración que tienen como base las MSCs.

Son células pluripotenciales capaces de generar tejido cartilaginoso, pero también óseo. Esto las hace una fuente celular interesante para el tratamiento de lesiones osteocondrales.

Además, son células con un rechazo inmunológico prácticamente nulo, ya que no expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II responsable de esta respuesta. Por esto, los recursos de obtención son mayores ya que no tienen que ser células del mismo paciente,

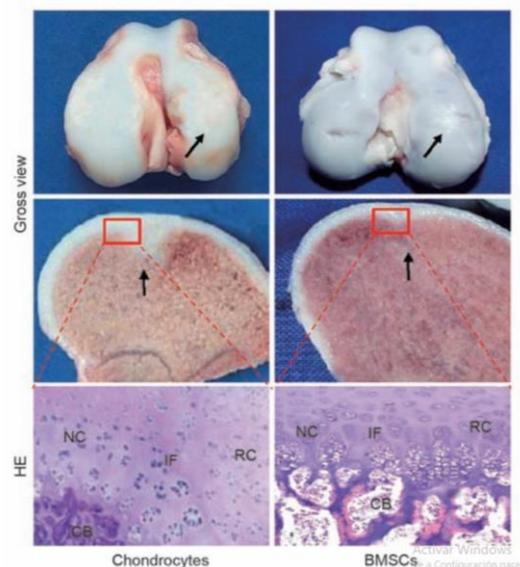


Figura 6: Reparación de una lesión osteocondral en el cerdo utilizando condrocitos y células madre de la médula ósea (BMSCs) sobre una membrana de ácido poliglicólico (PGA)(5)

sino que pueden ser aisladas de médula ósea, tejido adiposo, muscular o sinovial de otras personas (allogénico).⁽³⁾

Sin embargo, también presentan limitaciones que la ingeniería intenta solucionar diseñado esos productos medicinales o tejidos funcionales que combinan las MSCs con biomateriales y moléculas bioactivas. Estas son:

- a) El bajo número de células madre mesenquimales que se obtienen de la médula ósea o de otro tejido donante.
- b) La necesidad de crear un ambiente que permita la condrogénesis.
- c) La presencia de otro subgrupo celular también fruto de la diferenciación de las MSCs.
- d) La inestabilidad del fenotipo de los condrocitos generados.
- e) La pérdida de tiempo que conlleva la diferenciación celular, ententece el proceso de regeneración del tejido.

4.3 Factores biológicos y ambientales. Moléculas bioactivas.

En el desarrollo de esos *tejidos nuevos funcionales*, existe en tercer componente utilizado por la ingeniería de tejidos: los factores de crecimiento y otros factores mecánicos ambientales, que favorecen y regulan la formación del nuevo tejido.

4.3.1 Moléculas bioactivas. Factores de crecimiento.

Las moléculas bioactivas son fundamentales en terapias cuya fuente celular son las células madre mesenquimales, ya que dirigen la diferenciación celular de las mismas hacia los condrocitos. Pero también son sustancias con otras funciones condro-inductivas, que favorecen la proliferación y maduración de los condrocitos.

Podemos clasificar estos factores de crecimiento en 3 categorías recogidas en la siguiente tabla:

Tabla 3: Clasificación de los factores de crecimiento y sus funciones relacionadas con la condrogénesis. ⁽⁷⁾

Factores	Superfamilia de TGF-β		Factores de crecimiento insulínico (IGFs)	Factores de crecimiento de fibroblastos (FGFs)
	Familia del Factor de crecimiento transformante β (TGF-β)	Proteínas morfogenéticas óseas (BMPs)*		
Funciones	<ul style="list-style-type: none"> • Efecto anabólico en condrocitos. • Mantenimiento del fenotipo condrocítico. • Favorece la rediferenciación en condrocitos 	<ul style="list-style-type: none"> • Dirige la diferenciación de las células mesenquimales hacia el fenotipo de los condrocitos. <p>BMP-2: aumenta la rediferenciación de los condrocitos que</p>	<p>Principalmente IGF-1</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aumenta la proliferación de condrocitos. • Promueve la acumulación de proteoglicano 	<ul style="list-style-type: none"> • Promueve la reparación del cartílago. • Fomenta la proliferación celular en el cartílago. • Suprime la síntesis de

	<p>que han perdido su fenotipo.</p> <p>TFG-β1: promueve la proliferación celular e inhibe la acción sobre la matriz de las metaloproteasas.</p> <p>GDF-5: regula la producción de Glucosaminoglicanos (GAG) y colágeno tipo II por parte de condrocitos que derivan de las MSC humanas (hMSC)</p>	<p>ha perdido su fenotipo.</p> <p>BMP-4 y BMP-6: incrementan la producción de proteoglicanos (agrecano) y colágeno tipo II, mientras disminuye la del colágeno tipo I.</p> <p>BMP-2, BMP-12 y BMP-13 aumentan la síntesis de colágeno, GAG y favorecen la proliferación de condrocitos.</p>	<p>s Y síntesis de colágeno tipo II. Y el mantenimiento de la matriz por parte de los condrocitos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Contrarresta el catabolismo que se da en las lesiones del cartílago, fomentado la unión de los proteoglicanos • La Insulina promueve la condrogénesis 	<p>proteoglicanos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Disminuye el número de condrocitos lo que fomenta la forma fibroblástica del cartílago. • Inhibe la diferenciación celular hacia los condrocitos.
--	---	---	---	--

Una forma de utilizar estos factores de crecimiento que está actualmente en desarrollo, es administrándolos en un concentrado a un cultivo de células madre mesénquimas. Este concentrado recibe el nombre en inglés de *Platelet-Rich plasma* (PRP), y está compuesto por TFG-β1, IGF-1, Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de crecimiento plaquetario (PDGF), entre otros. El cultivo de MSCs en presencia de PRP ha demostrado la maduración de estas hacia la condrogénesis y la osteogénesis.

4.3.2 Factores ambientales

Por otra parte la inducción y estimulación condrogénica de las MSCs también puede depender de factores ambientales como: la estructura tridimensional, la baja tasa de oxígeno o los estímulos mecánicos.

Estos últimos, entre los que se incluyen la presión hidrostática, el estrés y la compresión a la que está sometido el cartílago que se va formando, son factores que condicionan la regeneración del tejido. Ya que por ellos la organización estructural de los componentes de la matriz extracelular puede verse modificada. (3)

5. Conclusión

En los últimos años, la ingeniería de tejidos ha desarrollado productos medicinales, que combinan biomateriales, células y biofactores, capaces de regenerar los tejidos dañados. Estos representan una terapia alternativa para el tratamiento de lesiones tisulares.

Se podría decirse que el aumento de la incidencia de lesiones del cartílago en humanos, ha sido un factor estimulante para que, la ingeniería de tejidos, intente ser una herramienta eficaz para

reparar el tejido cartilaginoso articular dañado por un traumatismo, la edad o bien por una patología como la artrosis.

MACI[®], Novocart[®]3D, BioCartTM[®], Hialograft-C[®], BioSeed[®]-C o MaioRegen[®] son algunos de los productos desarrollados por ingeniería de tejidos que intentan arreglar el cartílago destruido, reemplazando el tejido dañado por un tejido nuevo que tenga las mismas características anatómicas y funcionales que el cartílago original.

Pero aunque, los avances en esta disciplina han sido significativos, todavía no se ha conseguido superar todos los retos que implican la restauración y regeneración del tejido osteoarticular.

6. Bibliografía

1. Vacanti C. The history of tissue engineering. *J Cell Mol Med* 2006; 1:569–76.
2. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260:920–6.
3. Vinatier C, Guicheux J. Cartilage tissue engineering: From biomaterials and stem cells to osteoarthritis treatments. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 2016; 59:139–14.
4. Flórez Cabrera A, González Duque MI, Fontanlla, MR. Terapias Celulares y Productos de Ingeniería de Tejidos para el Tratamiento de Lesiones Condrales de Rodilla. *Rev. Colomb. Biotecnol* 2017; Vol. XIX n° 2:119 – 13.
5. Liu Y, Zhou G, Cao Y. Recent Progress in Cartilage Tissue Engineering-Our Experience and Future Directions. *Engineering* 2017; 3: 28–35.
6. Fox AJS, Bedi A, Scott A, Rodeo SA. The Basic Science of Articular Cartilage:Structure, Composition, and Function. *Sports Health* 2009.Vol1n°6:461-468
7. Mollon B, Kandel R, Chahal J, Theodoropoulos J. The clinical status of cartilage tissue regeneration in humans. *Osteoarthritis and Cartilage* 2013; 21:1824-1833.
8. Landínez NS, Vanegas JC, Garzón DA. Modelado matemático del comportamiento mecánico de un fragmento de cartílago articular.*Dyna,Medellín* 2009; 157:133-144.
9. Mobasheria A, Kalamegame G, Musumecif G, Battb ME. Chondrocyte and mesenchymal stem cell-based therapies for cartilage repair in osteoarthritis and related orthopaedic conditions. *Maturitas* 2014; 78:188–198.
10. Kon E, Filardo G, Perdisa F, Venieri G, Marcacci M. Clinical results of multilayered biomaterials for osteochondral regeneration. *Journal of Experimental Orthopaedics* 2014; 1:10.
11. Huang B J,Hu J C, Athanasiou K A. Cell-based tissue engineering strategies used in the clinical repair of articular cartilage. *Biomaterials*. 2016; 98: 1–22.
12. Huey D J, Hu J C, Athanasiou K A. Unlike Bone, Cartilage Regeneration Remains Elusive. *Science*. 2012; 16. 338(6109): 917–921.
13. Safran MR, Kim H, Zaffagnini S. The use of scaffolds in the management of articular cartilage injury. *J Am Acad Orthopaedic Surgeons* 2008;16(6):306-11.
14. Caló E, Khutoryanskiy V V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal* 2015;65:252-267

15. McNickle AG, Provencher MT, Cole BJ. Overview of existing cartilage repair technology. *Sports Med Arthrosc Rev* 2008;16(4):196-201.
16. Steinwachs MR, Waibl B, Mumme M. Arthroscopic treatment of cartilage lesions with microfracture and BST-CarGel. *Arthrosc Tech* 2014; 3:399–402.
17. Bomer N, den Hollander W, Suchiman H, Houtman E, Sliker RC, Heijmans BT, Slagboom PE, Nelissen R.G.H.H, Ramos Y.F.M, Meulenbelt I. Neo-cartilage engineered from primary chondrocytes is epigenetically similar to autologous cartilage, in contrast to using mesenchymal stem cells. *Osteoarthritis and Cartilage* 2016; 24:1423-1430.
18. Barbeck M, Serra T, Booms P, Stojanovic S, Najman S, Engel E, Sader R, Kirkpatrick CJ, Navarro M, Ghanaati S. Analysis of the in vitro degradation and the in vivo tissue response to bi-layered 3D-printed scaffolds combining PLA and biphasic PLA/bioglass components e Guidance of the inflammatory response as basis for osteochondral regeneration. *Bioactive Materials* 2017; 2: 208-223.
19. Serra T, Ortiz-Hernandez M, Engel E, Planell J A, Navarro M. Relevance of PEG in PLA-based blends for tissue engineering 3D-printed scaffolds. *Materials Science and Engineering C* 2014; 28:55–62.
20. Yuk-wai Lee W, Wang B. Cartilage repair by mesenchymal stem cells: Clinical trial update and perspectives. *Journal of Orthopaedic Translation* 2017; 9: 76-88.
21. Huang H, Zhang X, Hu X, Shao Z, Zhu J, Dai L, Man Z, Yuan L, Chen H, Zhou C, Ao Y. A functional biphasic biomaterial homing mesenchymal stem cells for in vivo cartilage regeneration. *Biomaterials* 2014; 35: 9608-9619.
22. Zhou H, Lawrence JG, Bhaduri SB. Fabrication aspects of PLA-CaP/PLGA-CaP composites for orthopedic applications: A review. *Acta Biomaterialia* 2012; 8:1999–2016.
23. Liu K, Dong Zhou G, Liu W, Zhang W J, Cui L, Liu X, Liu T Y, Cao Y. The dependence of in vivo stable ectopic chondrogenesis by human mesenchymal stem cells on chondrogenic differentiation in vitro. *Biomaterials* 2008; 29: 2183-2192.
24. Przekora A. Current Trends in Fabrication of Biomaterials for Bone and Cartilage Regeneration: Materials Modifications and Biophysical Stimulations. *International Journal of Molecular Sciences* 2019; 20:435-452.
25. Castañeda Sanz S, Herrero-Beamont. El Hueso subcondral y el tejido sinovial como diana terapéutica en la artrosis. *Revista Española reumatología* 2005; 32(1):42-7.
26. Theodoropoulos J S, Park S S, Kandel R A. Integration of tissue-engineered Cartilage with Host Cartilage: An in Vitro Model. *Clin. Orthop Relat Res* 2011; 469:2785-2795.
27. Zoua Y, Zhangb L, Yanga L, Zhua F, Dinga M, Linc F, Wangc Z, Lia Y. “Click” chemistry in polymeric scaffolds: Bioactive materials for tissue engineering. *Journal of Controlled Release* 2018; 273: 160–179.
28. Dickhut A, Gottwald E, Steck E, Heisel C, Richter W. Chondrogenesis of mesenchymal stem cells in gel-like biomaterials in vitro and in vivo. *Frontiers in Bioscience* 2008; 13: 4517-4528.
29. Sanjurjo-Rodríguez C, Castro-Viñuelas R, Hermida-Gómez T, Fuentes-Boquete I M, de Toro F J, Blanco FJ, Díaz-Prado S M. Human Cartilage Engineering in an In Vitro Repair Model Using Collagen Scaffolds and Mesenchymal Stromal Cells. *International Journal of Medical Sciences* 2017; 14(12): 1257-1262.

30. Brown B N, Ratner B D, Goodman S B, Amarg S, Badylak S F. Macrophage polarization: An opportunity for improved outcomes in biomaterials and regenerative medicine. *Biomaterials*. 2012; 33(15): 3792–3802.
31. Manzano S, Manzano R, Doblare M, Hamdy Doweidar M. Altered swelling and ion fluxes in articular cartilage as a biomarker in osteoarthritis and joint immobilization: a computational analysis. *J. R. Soc. Interface* 2014; 12: 20141090.
32. Condello V, Filardo G, Madonna V, Andriolo L, Screpis D, Bonomo M, Zappia M, Dei Giudici L, Zorzi. Use of a Biomimetic Scaffold for the Treatment of Osteochondral Lesions in Early Osteoarthritis. *BioMed Research international* 2018; article ID 7937089, 7 páginas.
33. Barbeck M, Dard M, Kokkinopoulou M, Markl J, Booms J, Sader Ra, Kirkpatrick Cj, Ghanaati S. Small-sized granules of biphasic bone substitutes support fast implant bed vascularization. *Biomatter* 2015; 5:1, e1056943, DOI: 10.1080/21592535.2015.1056943.
34. Pratap Singh Y, Bhardwaj N, Mandal B B. Potential of Agarose/Silk Fibroin Blended Hydrogel for in Vitro Cartilage Tissue Engineering. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016; 8: 21236–21249.