



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROPIEDADES MORFOQUÍMICAS DE LA FIBROÍNA DE
LA SEDA COMO ANDAMIO EN MEDICINA
REGENERATIVA. REVISIÓN SISTEMÁTICA.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

JESICA PAOLA ROJAS HERNÁNDEZ

TUTORA: Mtra. JUANA PAULINA RAMÍREZ ORTEGA

ASESORA: Dra. MARGARITA VICTORIA GARCÍA GARDUÑO

MÉXICO, Cd. Mx.

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Quisiera agradecer primeramente a Dios y en especial a...

Mi hija Vanessa Isabella principalmente, por llegar a mi vida y motivarme a salir adelante tanto en la carrera como en la vida. Hija mía, tú eres la luz de mis días, mi gran felicidad, mi mayor alegría. ¡Te amo!. Soy muy dichosa porque en la vida, me han sucedido cosas muy buenas, pero lo mejor que pudo pasarme es convertirme en madre de una pequeña tan bella como tú. Espero ser un buen ejemplo para ti, siempre.

A mi abuelita Juanita por sus cuidados y cariños, siempre ha sido parte de mi formación, de mi manera de ver la vida y de mis ganas de que todo en este mundo pase primero por el filtro del amor. Abuelita, así me enseñaste a vivir, y con el corazón contento te doy las gracias, y te digo felizmente que eres una mamá más, que me cuidó con amor. ¡Te amo!.

A mi mamá Luz del Carmen por amarme, por nunca abandonarme, por estar ahí siempre incondicionalmente, por ser la madre más valiente y decidida del mundo, invencible ante la vida y luchadora por nosotros tus hijos. A ti que me diste todo, sin pedir nada, a ti que dejaste todo por mí, a ti que entregaste todo por mí... Un millón de gracias y toda una vida de felicidad, a la única persona del mundo que siempre estará conmigo en las buenas en las malas, mi Mamá. ¡Te amo!.



A mis tíos Rubén e Imelda, por hacerme crecer, defenderme, por darme su apoyo siempre y amor infinito, por confiar siempre en mí y motivarme siempre a echarle ganas, por esas horas de pláticas productivas llenas de consejos, por ser como mis segundos padres. Gracias a ustedes pude lograr terminar mis estudios. Los amo y les estaré eternamente agradecida.

A mis hermanos Juan y Adrián. Hoy me quiero detener a agradecer haber crecido juntos, porque más allá que nuestros padres nos unieron, seguimos así, respetando nuestras diferencias y ayudándonos día a día. Superamos etapas de todos, momentos no tan lindos, separaciones y encuentros. Vivimos historias tan distintas como nosotros mismos. A veces, como agua y aceite. Caminamos a la par, pero tomando decisiones propias. Adoro ser su hermana, me llena el alma. La vida sigue y todavía nos depara desafíos, situaciones que vamos a tener que enfrentar. Yo, desde el fondo de mi corazón, deseo que siempre encontremos las palabras, el espíritu y la valentía para seguir juntos. ¡Los amo!.

A mi familia, mis tíos: Laura, Leticia, Daniel, José; mis primos y primas: Pepe, Nancy, Valeria, Denisse, Lidia. Jamás hubiese podido alcanzar mis metas, sin el apoyo incondicional de ustedes, sin su amor o sin su empuje. Gracias a ustedes, supe desde pequeña lo que es el amor, y lo que significa ser parte de una familia que se quiere, compartiendo un hogar. Agradezco a cada uno de ustedes, por su hermosa forma de ser,



la cual se ha impregnado en mi ser. Gracias por toda la educación, la confianza y todo el gran amor que me dieron, porque me han hecho una persona grande, fuerte, llena de mucho amor para dar. Sé que sin ustedes no habría crecido así, por ello mi agradecimiento es eterno.

A mi papá Felipe Rojas, a través de ti he aprendido mucho acerca del mundo, por ello me siento preparado para enfrentar cualquier disyuntiva. Gracias por enseñarme a ver la vida con los ojos abiertos para que no tenga que pasar por muchas cosas desagradables. Sé que todos debemos aprender de los tropiezos. Sabes que siempre estarás en mi corazón y mi vida. Gracias por todo.

A mi amiga Karina, te agradezco querida amiga por las horas compartidas quemándonos las pestañas, insistiendo para comprender alguna materia que se nos atragantaba, estudiando para el próximo examen o la siguiente exposición. Fuiste un apoyo y sé que nos hemos ayudado mutuamente, pero soy consciente de que sin tu compañía me hubiera sido más difícil concluir este reto. Gracias por todo tu apoyo, y por ser siempre mi amiga incondicional.

A mis amigos: Gris, Daniel, Alejandro, Mayela, Mitzzy, Luis Felipe... Mis buenos amigos que siempre me comprenden, que me conocen a la perfección y que me desean lo mejor. Los quiero mucho. Juntos hemos compartido muchas risas y también algunas lágrimas, pero lo mejor de todo es que hemos estado juntos en las buenas, las malas y podemos



seguir contando con nuestra amistad. Con todo mi cariño les agradezco por ser las mejores. No cambiaría todos los momentos que hemos compartido por nada en el mundo. Estoy segura de que jamás en la vida podré encontrar amigos como ustedes y no quiero hacerlo, porque son como mis hermanos. Son esa familia que uno escoge tener.

A mi tutora la Mtra. Juana Paulina Ramírez Ortega y asesoras la Dra. Margarita Victoria García Garduño, y Dra. Laura Esther Vargas Ulloa, a mi coordinadora C.D. María Eugenia Rodríguez Sánchez, gracias por el tiempo que dedican a esta hermosa profesión, en el cual por su dedicación, por sus esfuerzos, por su paciencia y compromiso, es mi base fundamental de mi desarrollo como persona, con el cual por sus consejos, enseñanza y sabiduría sé cómo afrontar de la mejor manera los problemas y obstáculos que a diario me voy a enfrentar, por su forma de involucrarse con el reto que se les presenta, consiguen inyectar en sus alumnos un sentimiento de que todo es posible. Eso es de agradecer, y poca gente tiene el don que ustedes poseen.

A la UNAM. Gracias a la máxima casa de estudios por darme la oportunidad de ser “Orgullosamente UNAM”. Brindándome las herramientas para superarme cada día.

Es un honor pertenecer a tu comunidad.

“Por mi raza hablará el espíritu”.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVO.....	10
CAPÍTULO 1. INGENIERÍA DE TEJIDOS Y MEDICINA REGENERATIVA.....	11
1.1. Generalidades.....	11
1.2. Andamios.....	12
CAPÍTULO 2. HISTORIA Y BENEFICIO DEL GUSANO DE SEDA <i>Bombyx mori</i>.....	14
2.1. Ciclo de vida de <i>Bombyx mori</i>	17
2.2. Estructura del capullo de <i>Bombyx mori</i>	22
CAPÍTULO 3. FIBROÍNA DE LA SEDA.....	26
3.1. Estructura y naturaleza química de la fibroína de la seda.....	27
3.2. Propiedades de la fibroína de la seda como biomaterial.....	33
3.2.1. Biocompatibilidad.....	35
3.2.2. Biodegradación.....	38
3.2.3. Propiedades mecánicas.....	39
3.2.4. Funcionalización de la superficie.....	40
CAPÍTULO 4. PRESENTACIONES DE LA FIBROÍNA DE LA SEDA EN INGENIERIA DE TEJIDOS.....	43
4.1. Mallas electrohiladas.....	44
4.2. Films o películas transparentes.....	45
4.3. Hidrogeles.....	46
4.4. Matrices o esponjas porosas 3D.....	48
4.5. Micro y nanopartículas.....	49



CAPÍTULO 5. APLICACIÓN DE LA SEDA EN MEDICINA REGENERATIVA.....	50
5.1. Aporte de la fibroína en la regeneración del tejido dental.....	52
5.1.2. Suturas funcionalizadas con nanomateriales para cirugía oral....	57
5.1.2.1. Péptidos antimicrobianos.....	60
5.1.2.2. Iones metálicos.....	60
5.1.2.3. Polímeros.....	61
5.1.2.4. Nanomateriales.....	64
CONCLUSIONES.....	68
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
GLOSARIO	



INTRODUCCIÓN

Durante siglos, tanto hombres como mujeres, tuvieron un gran aprecio por el traje de seda, principalmente por su calidad (Cenis, 2009). La Seda es una proteína fibrosa, producida por una variedad de especies, incluyendo al gusano de seda (*Bombyx mori.*) y araña.

La seda tiene muchas funciones, incluyendo a los capullos que sirven para proteger los huevos o larvas, a las fibras como soporte de las redes de las arañas que permiten la captura de insectos, dichas fibras son capaces de soportar altos impactos.

Las sedas producidas por el gusano de seda y la araña son las que más se han investigado, debido a su disponibilidad ya sea en la industria textil y en el uso de la historia médica.

La seda obtenida del gusano de seda (*Bombyx mori.*), es segregada por las glándulas sericígenas, que la utiliza para elaborar su capullo, una estructura cerrada de protección en la que realiza la metamorfosis de larva a adulto (Cenis, 2009). Este consta de dos proteínas: la fibroína que se ha propuesto como material de implante y como material de andamiaje capaz de promover los procesos de regeneración de los tejidos (Altman, 2003) y la sericina como material protector de la piel el mismo que mantiene y promueve la retención de la humedad en la epidermis (Zhaorigetsu, 2009). Tiene además una alta actividad antibacteriana, antioxidante y antimicótica, esto significa que la sericina puede detener la reacción de oxidación de los radicales libres e inhibir



el crecimiento de microorganismos patógenos productores de numerosas enfermedades.

Los grandes avances producidos en la última década mediante la aplicación de las herramientas de la biología molecular y celular han hecho posible el desarrollo de nuevos conceptos terapéuticos en bio-medicina, que han abierto nuevos campos como son la Medicina Regenerativa y la Ingeniería de tejidos. Estos conceptos se basan en la posibilidad real de aislar células troncales (stem cells) indiferenciadas, desarrollarlas en soportes (andamios) adecuados y favorecer su diferenciación a diversos tejidos mediante la acción de factores de crecimiento celular específicos. Ello abre la posibilidad de producir tejidos humanos nuevos capaces de reemplazar a tejidos lesionados, evitando el riesgo de rechazo del sistema inmune. El componente principal de la Medicina Regenerativa es sin duda el conocimiento detallado de la biología y manejo de las células troncales. Estas investigaciones han captado la atención del público y tienen un gran perfil mediático. Sin embargo, hay otro componente de la ingeniería de tejidos mucho menos conocido como son los biomateriales en los que esas células han de crecer, diferenciarse e integrarse en los lugares adecuados del organismo receptor. Las características de estos materiales tienen una influencia decisiva en el éxito del proceso.

Afortunadamente se dispone de una gran variedad de biomateriales adecuados para estas aplicaciones. Gran parte de ellos son sintéticos (biopolímeros, cerámicas, biovidrio, etc.) en tanto que otros son de origen natural (colágeno, alginatos, etc). Curiosamente, hace pocos años, uno de los materiales más antiguos producidos por la humanidad se ha mostrado como uno de los biomateriales de mayor calidad y potencial para ingeniería de



tejidos. Se trata de la seda. La aplicación de la seda como biomaterial, a través de su uso en suturas quirúrgicas; fue temprana, y data del siglo XIII. Sin embargo, los nuevos conocimientos adquiridos sobre las propiedades y estructura de este producto, han abierto su uso a nuevas aplicaciones que vamos a tratar brevemente en este trabajo.

OBJETIVO

- Describir las propiedades morfoquímicas de la fibroína de la seda como andamio en medicina regenerativa.



CAPÍTULO 1. INGENIERÍA DE TEJIDOS Y MEDICINA REGENERATIVA

1.1 Generalidades

La ingeniería de tejidos evolucionó del campo de desarrollo de biomateriales y se refiere a la práctica de combinar andamios, células y moléculas biológicamente activas para crear tejidos funcionales. El objetivo de la ingeniería de tejidos es recopilar ideas o teorías que restauren, mantengan o mejoren los tejidos dañados u órganos completos. La piel y los cartílagos artificiales son ejemplos de tejidos fabricados por ingeniería que han sido aprobados por la FDA (Food and Drug Administration); sin embargo, actualmente tienen un uso limitado en pacientes humanos.¹

La medicina regenerativa es un campo amplio que incluye la ingeniería de tejidos, pero también incorpora la investigación sobre auto curación, donde el cuerpo usa sus propios sistemas, algunas veces con ayuda de material biológico extraño, para recrear células y reconstruir tejidos y órganos. Los términos Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa han llegado a ser intercambiables, ya que el campo intenta enfocarse en las curas en lugar de en los tratamientos para enfermedades complejas y a menudo crónicas. Este campo continúa evolucionando. Además de las aplicaciones médicas, las aplicaciones no terapéuticas incluyen el uso de tejidos como biosensores para detectar agentes amenazantes biológicos o químicos, y chips de tejidos que se pueden utilizar para probar la toxicidad de un medicamento experimental.



1.2 Andamios

Uno de los puntos claves en la regeneración de órganos o para la regeneración de parte de un tejido dañado es el de desarrollar estructuras 3D que sustituyan parte del órgano, total o parcialmente, o actúen como vehículo para transportar células y moléculas a lugares concretos del organismo. Estos soportes se construyen con materiales distintos en función de la estructura del órgano o tejido donde se vayan a implantar. Se fabrican implantes (estructuras) metálicos, de materiales cerámicos, de polímeros naturales o sintéticos y de compuestos formados por varios materiales. Los materiales más empleados son los polímeros por las características y versatilidad de los mismos.³

De cualquier manera, es necesario que esas estructuras cumplan con varios requisitos como:

- A. Ser compatibles con el organismo, es decir, no generar rechazo ni daños.
- B. Tener una determinada vida media para desarrollar su tarea. Esta duración puede ser más o menos larga. En el caso de las prótesis que reemplazan parte de un órgano tiene que ser permanente mientras que en otros casos puede tener una duración limitada al tiempo necesario para realizar su función. En este último caso se suelen construir con materiales biodegradables que poco a poco se van "disolviendo" y van desapareciendo del organismo.



C. Aportar las prestaciones necesarias para realizar correctamente la función a la que van a ser destinados.³

Esos andamios o soportes pueden fabricarse de diferentes formas con dimensiones micro o nanométricas.³



CAPÍTULO 2. HISTORIA Y BENEFICIOS DEL GUSANO DE SEDA *Bombyx mori*

La seda del gusano de seda se ha utilizado comercialmente para realizar suturas biomédicas durante décadas, y en la producción de textiles durante siglos.⁴ La mariposa *Bombyx mori*, cuya larva es llamada gusano de seda, es una especie de insecto lepidóptero de la familia *Bombycidae* originaria del norte de Asia. Se cría hoy en muchas regiones del mundo para aprovechar el capullo que protege a su crisálida, constituido por un largo filamento de seda, el cual produce la oruga al retraerse para la metamorfosis.^{5,6}

El gusano de seda se clasifica en la familia de los Lepidópteros, dentro del grupo de Bombycidos,⁷ es un gusano con la capacidad de convertir proteínas vegetales y producir seda. De acuerdo a Luna y Zapata (1991) referido por Salice (2001), realiza la clasificación del gusano de seda (Tabla 1).⁸

Tabla 1 Clasificación del gusano de seda *Bombyx mori*.

CLASE	INSECTA O HEXÓPODA
ORDEN	LEPIDÓPTERA
FAMILIA	BOMBYCIDAE
GÉNERO	<i>Bombyx</i>
ESPECIE	<i>mori</i>
NOMBRE CONOCIDO	GUSANO DE SEDA

Según Singh (2002) menciona que el descubrimiento del *Bombyx mori* se obtiene en 2640 AC por Xilingji (Hsiling-Chi), esposa del tercer Emperador



Chino Huangdi (Hoang-Ti), quien hizo caer accidentalmente un capullo de gusano de seda en una taza de agua caliente donde posteriormente observó que las fibras de éstos podían ser desenrolladas. Estas fibras procedentes del capullo de seda, podían ser trenzados juntos para hacer un hilo lo suficientemente fuerte para utilizar en diferentes tejidos. Así empezaron los medios para la crianza de los gusanos de seda (sericultura) para obtener sus fibras y emplearlo en los tejidos de varias prendas de vestir.^{8,9}

El gusano de seda *Bombyx mori* ha sido domesticado para la producción de seda hace 5.000 años a partir del gusano de seda salvaje *Bombyx mandarina*. Como es el único insecto verdaderamente doméstico, es completamente dependiente de los seres humanos para su sobrevivencia y reproducción. En la antigüedad, fue un producto muy apreciado, siendo considerada “la Fibra de los Dioses”. En la Edad Media, su producción se extendió a Europa y más tarde, al resto del mundo (Casadio y Pescio, 2004).¹⁰

En la actualidad, el gusano de seda es uno de los insectos económicamente más importantes en muchos países en desarrollo, debido a su cultivo a gran escala para la producción de seda (Michihiko, 2009). El volumen mundial comercializado es de 70.000 ton, representando el 1% del total de fibras textiles. El principal país productor es China. En Latinoamérica, Brasil posee la mayor producción, siendo el tercer productor mundial con 6.000 ton / año (Casadio y Pescio, 2004).¹⁰

El *Bombyx mori* es el organismo modelo para Lepidópteros, el segundo grupo más grande de insectos, que incluye las plagas agrícolas más destructivas. Con el desarrollo de la biotecnología, *B. Mori* ha llegado a utilizarse como un



biorreactor de gran importancia para la producción de proteínas recombinantes (Tamura, 2000).¹¹

La información sobre el gusano de seda no sólo tiene un fuerte impacto en la mejora de la sericultura,¹² ya que también facilita el desarrollo de nuevos métodos de control contra plagas. (Figura 1)¹⁴



Figura 1. Gusano de seda *Bombyx mori*.



2.1. Ciclo de vida de *Bombyx mori*

El gusano de seda *Bombyx mori*, se caracteriza por poseer el cuerpo cubierto por una cutícula no flexible, por esta razón, para poder aumentar su tamaño necesitan cambiar (mudar) la “piel”, este proceso, denominado muda, ocurre en esta especie cuatro veces durante su vida juvenil interrumpiéndose al llegar al estado adulto.¹³

Según Julien (1938) menciona que el ciclo de vida del *Bombyx mori* es de seis a ocho semanas dependiendo de las características raciales y las condiciones climáticas, cuyo alimento principal es la hoja de morera. (Figura 2)⁵



Figura 2. Ciclo biológico del gusano de seda *Bombyx mori*.

Como todos los Lepidópteros, tienen su ciclo de vida dividido en las siguientes etapas (Figura 3), principalmente:⁸

- Huevo
- Larva
 - Primer estadio
 - Segundo estadio
 - Tercer estadio
 - Cuarto estadio
 - Quinto estadio
- Encapullamiento (transformación a pupa ó crisálida)
- Adulto

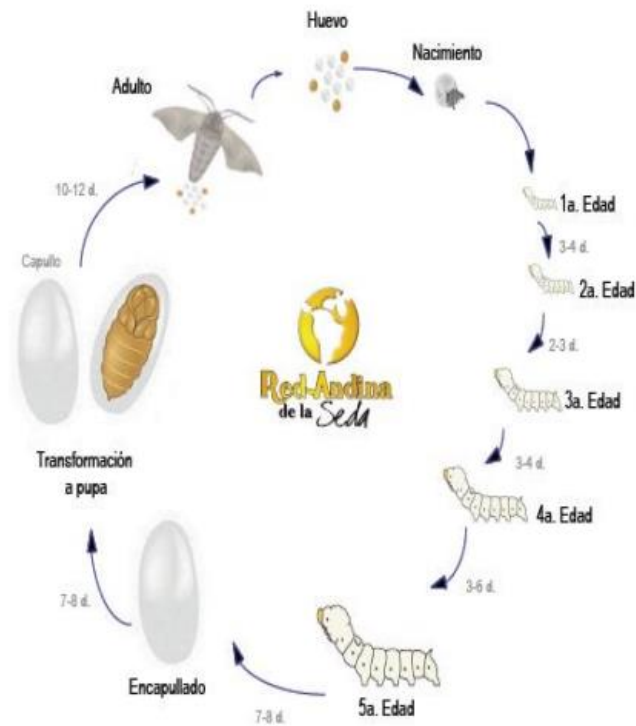


Figura 3. Ciclo de vida de gusano de seda *Bombyx mori*.¹⁰



Para entender el origen de la seda es importante entender el ciclo de vida:

Huevo Representa el período de descanso o latencia; pueden ser mantenidos a una temperatura entre 5 y 8 °C por 6 u 8 meses. Da origen a la larva que apenas nacida tiene un aspecto poco agradable: es peluda y de un color muy oscuro, característica que comúnmente pierde en los 2 primeros días de vida por efecto de la alimentación.^{10,13}

Larva Después de 15 días a una temperatura de 24 o 25°C se produce la eclosión de los huevos. En el nacimiento, la larva o gusanito posee una longitud de 2 mm y al cabo de 4 ó 5 semanas y para completar su ciclo debe sufrir numerosas modificaciones de la que interesa es el peso, después de pasar por los 5 estadios, llega a medir 8 cm de longitud. Una vez llegada la última fase del quinto estadio larvario, busca un lugar seco y apropiado para tejer el capullo.^{10,13}

Primer estadio: Es el tiempo que transcurre entre el nacimiento y la primera muda de piel, transcurriendo entre 4 y 6 días. Al nacer, el gusano es de cabeza negra brillante y cuerpo negruzco cubierto de pelos. La muda se produce entre 24 y 48 horas.⁵

Segundo estadio: Dura 3 días. La cabeza se nota más grande, el pelo más corto y el color se va aclarando. Se produce la segunda muda de piel, que tiene lugar en 24 horas.⁵

Tercer estadio: Transcurre en 4 días y ya su cuerpo es de color casi blanco. La tercera muda dura 24 horas, periodo durante el cual no hay necesidad de alimento debido al tamaño alcanzado por las larvas en las fases anteriores.⁵



Cuarto estadio: Se realiza en 5 días y se produce el mayor desarrollo. El cuerpo toma una coloración definitiva, blanco con rayas o sin ellas. La cuarta muda se produce en un periodo de tiempo comprendido entre 36 y 48 horas.⁵

Quinto estadio: La duración es de 6 a 9 días, alcanzando la larva su madurez. En los últimos días la piel comienza a tornarse amarillenta y brillante y deja lentamente de comer. Las glándulas productoras de la seda se encuentran bien desarrolladas y están llenas, listas para producir el capullo.⁵

La larva busca un lugar seco y apropiado para tejer el capullo, donde realizará la metamorfosis de larva a adulto.⁵

Encapullado o crisálida, es una fase de aparente inactividad, pero con una intensa actividad metabólica que ocurre dentro del capullo confeccionado por la larva durante 4 días. Lugar donde permanece durante 12 a 14 días, tiempo en el que se originarán los cambios metamórficos que llevarán a transformarlo en mariposa.^{10,13}

Adulto La crisálida da origen a la mariposa que representa la fase "perfecta". Poco después del nacimiento, machos y hembras se aparean durante varias horas, luego de lo cual las hembras depositan los huevos. Ambos sexos no se alimentan y mueren en pocos días. Luego del acoplamiento y con la deposición de los huevos, se da la continuidad del ciclo biológico del insecto.^{8,11}

Las crisálidas emergen del capullo convertidas en mariposas. Recién nacidas son de color blancuzco, con pelos en todo el cuerpo y patas.⁵

Tanto las hembras como los machos no vuelan, comen ni beben en su corta vida. La hembra vive entre 10 y 12 días y el macho lo hace entre 28 y 32 días.⁵



La glándula sericígena del gusano es la encargada de segregar la seda para la elaboración del capullo. Esta glándula se divide en tres regiones con diferentes funciones cada una de ellas: la glándula posterior, media y anterior. (Figura 4)⁵

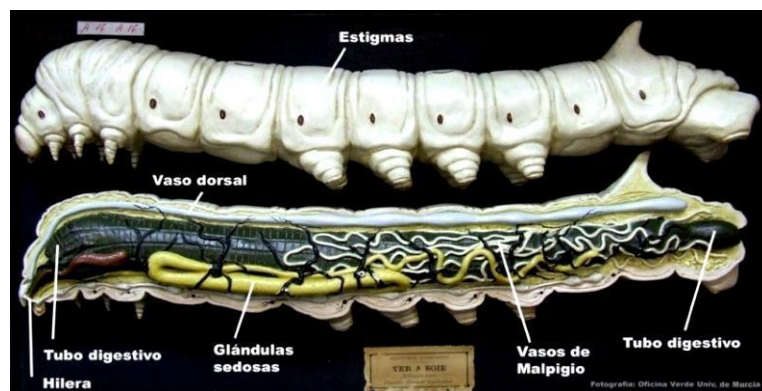


Figura 4. Anatomía del gusano de seda.

- La región posterior de la glándula de seda es curvada, de gran longitud y segrega exclusivamente fibroína, que conforma del 70 al 80% de la seda.
- La región media es la más grande y tiene tres divisiones bien definidas formando una figura de “S”. En esta región se segrega la sericina.
- La sección anterior es un tubo estrecho con un diámetro de 4 mm en donde el filamento largo de seda es formado por presión del tubo, los cambios de pH, fuerza iónica y actividad del agua.⁵



El hilo producido es continuo y puede medir hasta 1.500 metros.⁵

2.2. ESTRUCTURA DEL CAPULLO DE *Bombyx mori*

Voegeli R (1993) expresa que la seda segregada por el *Bombyx mori* presenta propiedades únicas como biomaterial. El capullo de seda consta de dos principales proteínas; la fibroína en un 75%, cuya formulación química es $C_{15}H_{23}N_5O_6$ conforma la capa interna del hilo, y la sericina en un 25% cuya formulación química es $C_{15}H_{25}N_5O_8$ conforma la parte externa del hilo. Además, menciona que cada uno de los capullos contiene un hilo continuo que puede llegar a medir hasta 1.5 Km.⁸ (Figura 5)

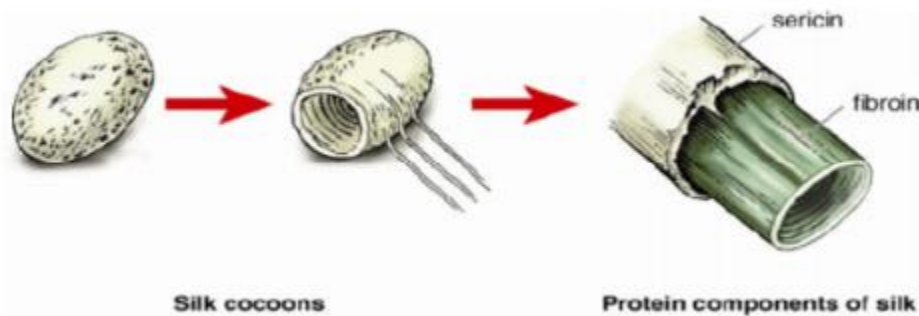


Figura 5. Componentes de la estructura de la seda.¹³

Cada gusano excreta dos filamentos de fibroína simultáneamente, que unidos por la sericina constituyen la seda, y es empleado para la formación del capullo de *Bombyx mori* (Figura 6)¹⁴, muy similar a la fibra de las arañas que igualmente ha sido ampliamente estudiada debido a la existencia de similitudes con la fibra de seda. (Figura 7)⁸



Figura 6. Capullo de seda *Bombyx mori*.

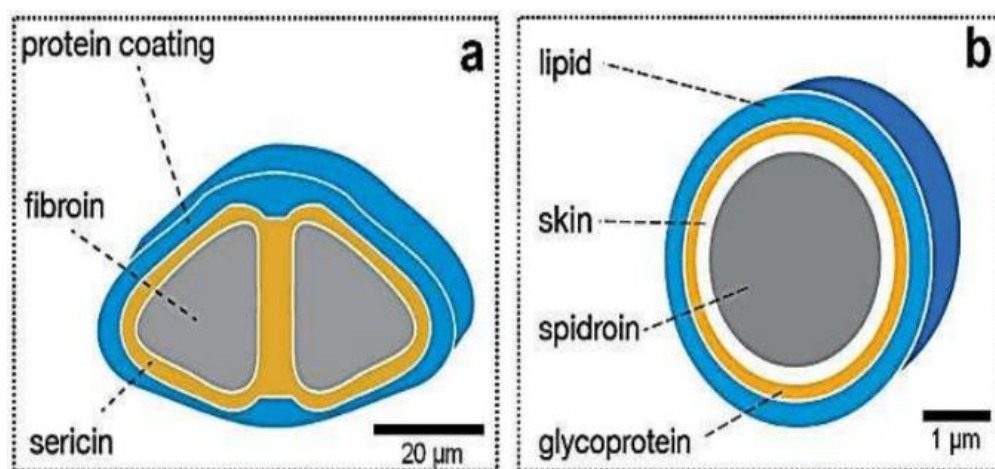


Figura 7. Sección transversal de la fibra de (a) *Bombyx mori* (b) araña.

Las fibras del núcleo, constituidas por fibroína, están envueltas en una capa de sericina (Figura 8)¹⁶, una familia de proteínas que actúan como cementación que sostiene dos fibras de fibroína juntas para formar los capullos para proteger el crecimiento del gusano. (Figura 9)¹⁵

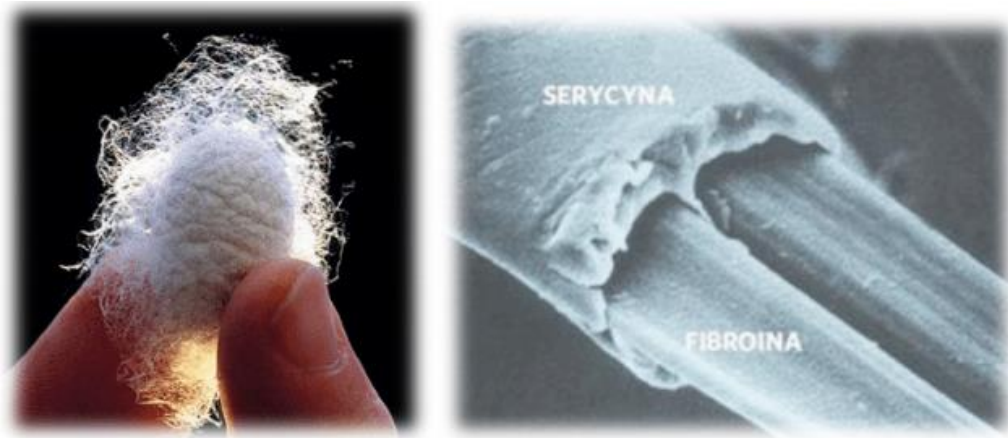


Figura 8. Capullo de *Bombix mori* (izquierda). Disposición de las proteínas fibroína y sericina en las fibras producidas por *Bombix mori* (derecha).



Figura 9. De los capullos de los gusanos de seda domesticados *Bombyx mori* se obtiene la mayor parte de la seda.



CAPÍTULO 3. FIBROINA DE LA SEDA

La utilización de la seda como material de sutura en cirugía data de varios siglos. En este sentido, la seda tiene una amplia tradición como biomaterial en una aplicación muy delimitada. Sin embargo, el gran interés que ha despertado la seda como biomaterial ha surgido recientemente enmarcada en la ingeniería de tejidos.^{16,17}

De forma sorprendente, en torno a los primeros años de la pasada década, una serie de trabajos del grupo de D.L. Kaplan, de la Universidad Tufts, en Boston, pusieron de manifiesto que una proteína de la seda, la fibroína, reúne las cualidades necesarias para constituir un biomaterial muy adecuado para su uso en aplicaciones relacionadas con la ingeniería de tejidos. A partir de estos primeros trabajos, la atención dedicada a la fibroína de seda (SF, por sus siglas en inglés, *silk fibroin*) no ha dejado de crecer, desarrollándose continuamente nuevas aplicaciones.^{11,16}

Altman GH (2003) expresa que la fibroína es la proteína principal de la seda y su conformación cambia drásticamente antes, durante y después del hilado. Su capa (sericina) pertenece a una familia de pegamentos de proteínas que mantienen la fibroína junta para formar los hilos que conforman el capullo. Kim U (2005) detalla que esta proteína se compone por una serie de aminoácidos que se repiten y se entrelazan por cadenas de hidrógeno.^{11,16}



Estos aminoácidos son: Sericina, Alanina y Glicina; es la última la más abundante y proporciona una condensación muy alta de las moléculas, haciendo más fuertes y resistentes a las fibras. (Figura 10)⁵

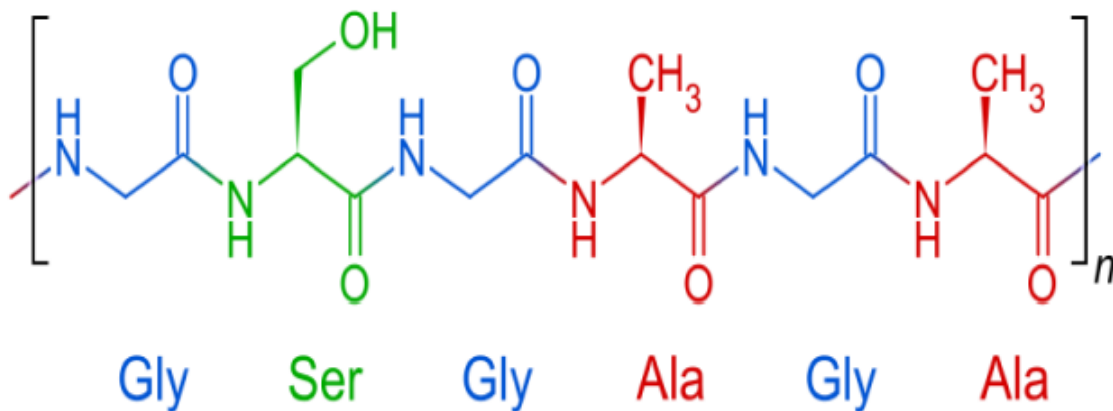


Figura 10. Componentes de la fibroína.

3.1. Estructura y naturaleza química de la fibroína de la seda

Composición química de la seda

La fibra de seda se compone en un 97% de proteínas y un 3% de otros componentes como: ceras, carbohidratos, pigmentos y compuestos inorgánicos. Las principales proteínas en la fibra de seda son aproximadamente 75% fibroína ($C_{15}H_{23}N_5O_6$) y 25% sericina ($C_{15}H_{25}N_5O_8$). La fibroína y la sericina están a su vez compuestas por diversos aminoácidos. (Tabla 2)¹⁸



Tabla 2. Composición típica de aminoácidos presentes en la fibroína y la sericina expresado en porcentaje (%).

Aminoácidos	Fibroína	Sericina
Glicina	44,5	14,7
Alanina	29,3	4,3
Serina	12,1	37,3
Tirosina	5,2	2,6
Valina	2,2	3,6
Ácido aspartico	1,6	14,8
Ácido glutamico	1	3,4
Treonina	0,9	8,7
Isoleucina	0,7	0,7
Fenilalanina	0,6	0,3
Leucina	0,5	1,4
Arginina	0,5	3,6
Lisina	0,3	2,4
Prolina	0,3	0,7
Histidina	0,2	1,2
Metionina	0,1	-
Triptófano	0,2	-
Cistina	0,04	0,1

La fibroína es una estructura lineal altamente orientada y cristalina, es la proteína estructural de la seda. La sericina, por su parte, es un pegamento proteico parcialmente hidrosoluble y de estructura globular, que sirve para unir las fibras entre sí. (Figura 11)¹⁸

Cada gusano excreta dos filamentos de fibroína simultáneamente, que unidos por la sericina constituyen la fibra y es empleada para formar el capullo. (Figura 12)¹⁸

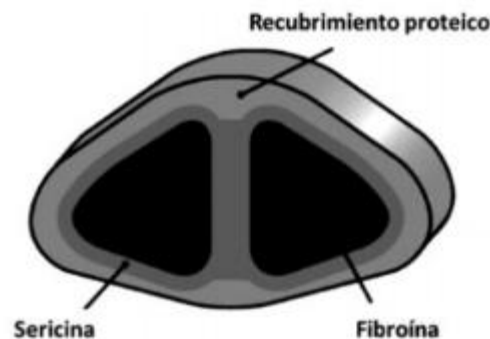


Figura 11. Esquema de la fibra de la seda.

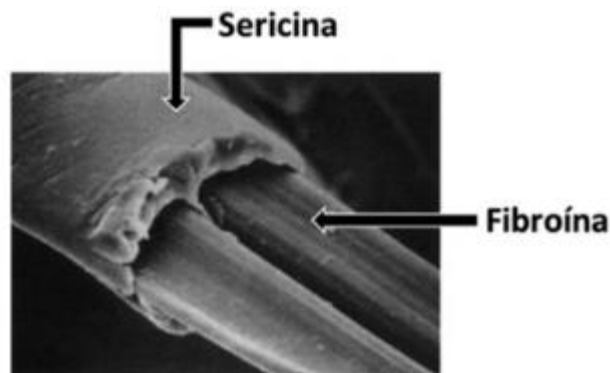


Figura 12. Micrografía SEM de la fibra de seda.

La secuencia primaria de la fibroína que da lugar a un polímero en estructura de co-bloque, en el cual las regiones cristalinas hidrofóbicas son interrumpidas por pequeñas regiones hidrofílicas que se combinan aleatoriamente. Los extremos N-terminal y C-terminal están muy conservados. En su conformación se distinguen dos dominios: una cadena ligera de unos 26 kDa y una cadena

pesada de unos 390 kDa unidas por un puente disulfuro. La unidad estructural se consigue al añadir al conjunto una glicoproteína de unos 25 kDa llamada P25 (fibrohexamerina) que produce una unión no covalente de 6 bloques de cadenas ligeras y pesadas. Por tanto, las cadenas pesadas, las ligeras y P25 se ensamblan ajustándose a un radio 6:6:1.¹⁶

Las sericinas (20-310 kDa) integran una familia de proteínas hidrofílicas encargadas de cubrir las fibras de fibroína. Éstas actúan a modo de pegamento permitiendo que las fibras se conformen en una estructura sólida, hueca y mecánicamente resistente, conocida comúnmente como capullo. (Figura 13)¹⁶

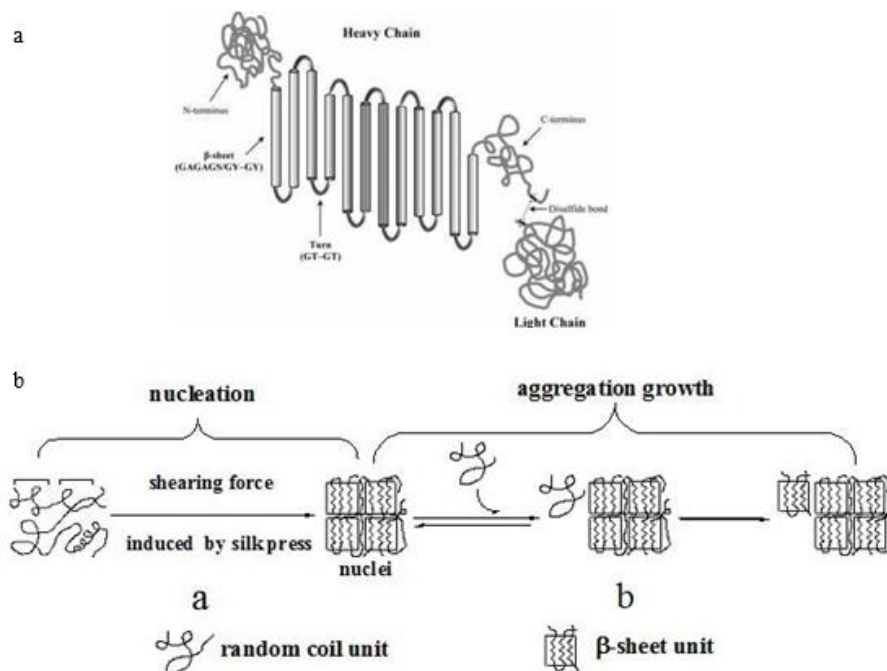


Figura 13. Organización molecular de la fibroína (a) y de los procesos de nucleación y agregación de la fibroína (b).



La SF de *B. mori* presenta los siguientes porcentajes en la composición en aminoácidos: 43% Gly, 30% Ala y 12% Ser. La cadena pesada está formada por:

- 12 dominios que forman la región cristalina (estructura en lámina- β) de las fibras (Tabla 3), (Fig. 14a). Los dominios cristalinos en las fibras consisten en repeticiones de Gly-X, pudiendo ser X: Ala, Ser, Thr y Val (Fig. 14b). En *B. mori*, cada dominio cristalino se compone de subdominios de aproximadamente 70 residuos, que en la mayoría de los casos comienzan con repeticiones del hexapéptido Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser y terminan con el tetrapéptido Gly-Ala-Ala-Ser.¹⁶

Tabla 3. Características de la fibra de seda en *Bombyx mori*.¹⁶

Seda de <i>Bombyx mori</i>				
Fibra de seda	Fibroína (72-81%)			Sericina (19-58%)
	Cadena pesada	Cadena ligera	Glicoproteína P25	Proteína tipo pegamento
Peso molecular	390 kDa	26 kDa	25kDa	~300 kDa
Polaridad	Hidrofóbica			Hidrofílica
Estructura	Seda I (estructura desordenada)			Estructura no cristalina
	Seda II (estructura cristalina)			
	Seda III (estructura inestable)			
Función	Proteína filamentosa que conforma la fibra en el núcleo de la estructura			Proteína de recubrimiento que une dos fibras de fibroína actuando como pegamento

- Secuencias primarias (no repetitivas) que están menos organizadas y se intercalan con la lámina- β . Las regiones menos cristalinas de la cadena pesada de la fibroína, también conocidas como “enlazadoras o *linkers*” tienen entre 42 y 44 aminoácidos que no se encuentran en los dominios repetidos. (Figura 14)¹⁶

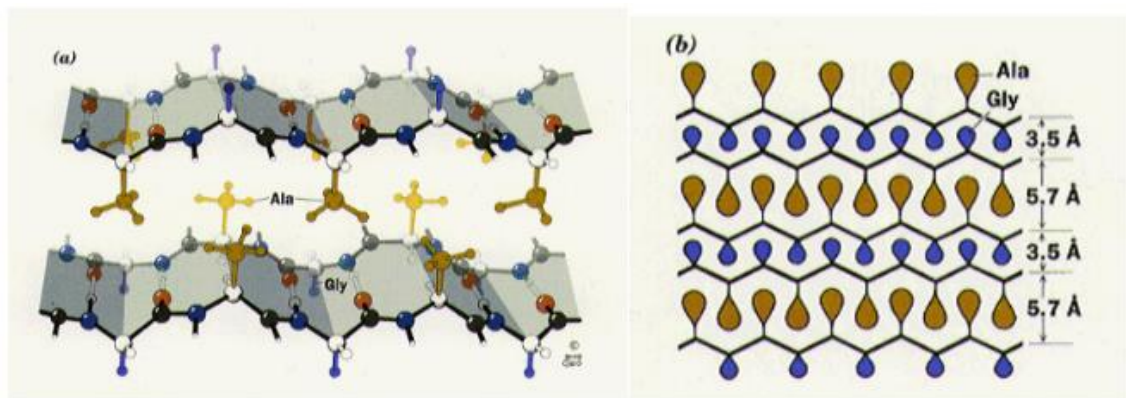


Figura 14. Estructura en lámina- β de la SF (a). Repeticiones Gly-Ala (b).

Entre las fibras textiles naturales la seda se destaca gracias a sus propiedades particulares. Por ejemplo, su higroscopía, es decir, en condiciones estándares tiene una recuperación cerca del 11% y es capaz de absorber hasta el 30% de su peso de agua sin generar sensación de humedad, lo que la hace confortable al contacto con la piel. Sus propiedades tensiles específicas son superiores a la mayoría de las fibras naturales y comparables con fibras sintéticas de alto desempeño como el Kevlar®, con una tenacidad de 5 g/denier y una elongación de 1725%. La sección transversal de la seda es triangular con esquinas redondeadas, esto le proporciona una excelente capacidad de



reflexión de la luz, razón por la cual es una fibra lustrosa. Cada filamento mide de 5 a 10 μ m de diámetro aparente y puede alcanzar una longitud de hasta 1600m, por lo que se le considera una microfibra natural.¹⁸

La seda es mala conductora de electricidad y por lo tanto susceptible a almacenar electricidad estática. Tiene una baja conductividad térmica, su temperatura de transición vítrea es $\sim 175^{\circ}\text{C}$ y su degradación térmica se encuentra cerca de 250°C , por lo que tolera procesos con temperaturas de hasta 15°C . Es resistente a la mayoría de los ácidos minerales con excepción del ácido sulfúrico, mientras que es sensible a medios alcalinos ($\text{pH} > 9$). Es soluble en disolventes como bromuro de litio acuoso, ácidos fosfóricos y soluciones de cupramonio, y no es resistente a los agentes oxidantes fuertes como el hipoclorito de sodio y el cloro.¹⁸

La seda contiene dos grupos reactivos principales, los amino ($-\text{NH}_2$) y los carboxílicos ($-\text{COOH}$). Es una fibra anfótera, con un punto isoelectrónico cerca a $\text{pH} \sim 5$. En esta condición su carga es neutra y por debajo de este pH presenta un carácter catiónico, por lo que existen metodologías adecuadas para teñirla con diferentes colorantes en medios ácidos y alcalinos.¹⁸

3.2. Propiedades de la fibroína de la seda como biomaterial

La seda, es segregada por las glándulas sericígenas del gusano de seda (*Bombyx mori*), que la utiliza para elaborar el capullo, una estructura cerrada de protección en la que realiza la metamorfosis de larva a adulto.¹⁹ Tal como es segregado el hilo de seda, que es continuo y puede medir hasta 1.500 metros, consta de dos proteínas. Una de ellas es la fibroína, que es una



proteína polimérica y lineal, que alterna dominios amorfos y otros de lámina beta. Constituye el 70% del peso del capullo. La otra proteína es la sericina, hidrosoluble y de estructura globular, que mantiene unidos los filamentos de fibroína. La sericina es normalmente desechada en el proceso textil, aunque tiene diversas aplicaciones en medicina y cosmética. La fibroína en cambio, presenta características que la hacen muy interesante como biomaterial.^{19,20}

Las ventajas de la SF sobre otros biomateriales radican en sus excelentes propiedades mecánicas, biocompatibilidad, un procesamiento basado en el agua, además de ser biodegradable y presentar grupos químicos fácilmente accesibles para introducir modificaciones funcionales.¹⁶

La fibroína de la seda es purificada mediante el hervido de los capullos en solución salina para eliminar la sericina en un proceso llamado “desgomado”. El disolvente más habitual de la fibroína nativa es el bromuro de litio en solución acuosa 9.3 M y en temperatura caliente. Otros disolventes comúnmente empleados son el cloruro cálcico disuelto en agua o una mezcla de etanol, cloruro cálcico y agua.²⁰

Por otro lado, hay otros disolventes como el metiltiocianato que son menos utilizados. Antes de ser empleada como material de partida para la elaboración de biomateriales, se ha de dializar la fibroína disuelta para eliminar las sales que contiene. La fibroína disuelta en agua es el material de partida para la fabricación de casi todos sus biomateriales derivados. Para su conservación se puede eliminar el agua mediante liofilización, obteniéndose lo que se llama “fibroína regenerada”. Ésta mantiene las propiedades de solubilidad, pudiendo disolverse en agua y en otros disolventes tales como el



ácido fórmico y el hexafluoroisopropanol (HFIP) que no tienen la capacidad de disolver la fibroína nativa. La fibroína regenerada tiene menor resistencia mecánica que la fibroína nativa, ya que los enlaces que forman la estructura en lámina beta se rompen en el proceso de disolución. Así, los biomateriales consistentes en seda regenerada han de ser sometidos a un tratamiento que produzca un aumento en el contenido de estructuras en lámina- β para insolubilizarlos e incrementar su resistencia.²⁰

Este proceso se conoce como “cristalización”. El tratamiento más empleado para incrementar el porcentaje de lámina- β es la inmersión del material en una solución de metanol. La inmersión en metanol hace que el material resultante sea más quebradizo. También se puede utilizar un tratamiento menos agresivo que consiste en exponer el material de seda regenerada a vapores de metanol en caliente. Un procedimiento alternativo de cristalización se basa en tratar el material con vapor de agua en vacío. El porcentaje de lámina- β así obtenido es menor, lo que implica también una menor resistencia mecánica a diferencia del tratamiento con metanol. Sin embargo, las propiedades del material resultante en términos de elasticidad, transparencia y biocompatibilidad son mejores.^{11,20}

3.2.1 Biocompatibilidad

La característica principal de un biomaterial ha de ser la biocompatibilidad.²¹

Un material implantado no debe desencadenar una reacción inflamatoria, ya que esto anularía su función. En el caso de la seda, existe una tradición de siglos en su uso como material de sutura. En esta aplicación, existe abundante



información que indica la posibilidad de aparición de reacciones inflamatorias en los puntos de sutura. Sin embargo, estudios más recientes indican que, en realidad, estas reacciones son debidas a la sericina y que una fibroína perfectamente limpia de la misma no induce ninguna respuesta inflamatoria.²¹

Se comprobó que las membranas de fibroína pura producen un nivel de activación de macrófagos inferior al producido con poliestireno y polimetacrilato. Se observaron *in vitro* que las fibras de seda sin sericina eran inmunológicamente inertes en un cultivo de macrófagos de ratón RAW 264.7, mientras que las partículas de fibroína insoluble sí que activaban la producción de TNF. Curiosamente, la sericina soluble no activa la reacción de los macrófagos, sino que es la presencia conjunta de fibroína y sericina, la que resulta inmunogénica. Meinel En estudios *in vivo* e *in vitro*, compararon la producción de citoquinas inflamatorias inducidas por membranas de fibroína, colágeno y ácido poliláctico (PLA), sobre las que sembraron células mesenquimales humanas para implantarlas intramuscularmente en ratas. La producción de 14 citoquinas inflamatorias *in vitro* fue similar en fibroína, colágeno y el control de plástico, mientras que la tasa de proliferación celular fue superior en la membrana de fibroína. En el estudio *in vivo* se comprobó una leve respuesta inflamatoria producida por la fibroína a nivel histológico, que fue menor que la observada en el implante de colágeno, y mucho menor que la observada en el implante de PLA. En conjunto, los resultados de este estudio indicaron que la fibroína es menos inmunogénica que cualquiera de los biomateriales habituales, cuando se encuentra purificada de sericina.^{11,21}



A pesar de los resultados alentadores, todavía quedan algunas preguntas sobre la seguridad a largo plazo de los biomateriales de seda en el cuerpo humano.²¹

En primer lugar, las suturas de seda empleadas para la cicatrización de heridas permanecen en el organismo durante un tiempo limitado. En la ingeniería de tejido se requieren productos de seda para estar en contacto con los tejidos durante un período de tiempo prolongado, por lo que es necesario realizar estudios acerca de la respuesta a largo plazo del sistema inmune basadas en la ubicación y tipo de constructo usando modelos *in vivo*. En segundo lugar, preocupa la reacción inmune en respuesta a los productos degradados de biomateriales de seda.²²

Una de las causas principales de fracaso de cualquier biomaterial implantado es la generación de partículas de desecho que puedan activar el sistema inmune. Se ha visto que los fragmentos de fibras de seda son capaces tanto de inducir la producción de citoquinas pro-inflamatorias leves, como de aumentar la fagocitosis.²²

Otra investigación sugiere que los productos degradados de SF también pueden causar amiloidogénesis provocando una degeneración tisular. Es, por tanto, necesario realizar más investigaciones orientadas a la respuesta inmune del organismo tras períodos largos en contacto con este biomaterial.^{11,22}



3.2.2. Biodegradación

La velocidad de degradación, la naturaleza de los productos de degradación y el metabolismo de los mismos son factores críticos a la hora de elegir y desarrollar un biomaterial. Éste debe degradarse y reabsorberse con el tiempo, pero a una tasa que permita a las células sembradas en el mismo diferenciarse y organizar una estructura tisular adecuada.²²

La biodegradación se define como la degradación de un polímero implantable por elementos biológicos que dan fragmentos que pueden moverse fuera del sitio a través de la transferencia de fluidos, pero no necesariamente del cuerpo. Por otro lado, se define la bioabsorción como la eliminación total del material tanto a través de la filtración como de la metabolización de los bioproductos degradados.^{11,22,23}

La biodegradación de la seda se estudia basándose en la pérdida de masa, cambios en la morfología y el análisis de los productos degradados *in vitro*. En modelos animales, la degradación se estudia a través de las propiedades mecánicas de la seda después de un cierto tiempo tras la implantación y el estudio de la integridad estructural a través de exámenes histológicos, tinción fluorescente y diversos ensayos bioquímicos. Como constructo implantado, el biomaterial de SF regenerada se degrada mucho más rápido que las fibras. La velocidad de degradación depende de la estructura secundaria de la seda resultante de la preparación de los materiales de seda regenerada.^{11,22,23}

Hay evidencias de la degradación *in vivo* de la seda, en estudios que revelan que andamios 3D de seda basados en agua e implantados en ratas Lewis, se desintegran en unas semanas y desaparecen después de 1 año. El sistema



inmune del huésped tiene un impacto significativo en la degradación de la SF en andamios 3D porosos y en la degradación de la esponja de seda mediante una respuesta mediada por macrófagos, lo que sugiere que la seda no sólo es biodegradable sino absorbible. Las células *in vitro* también están implicadas en la degradación de la seda. Osteoblastos y osteoclastos podrían erosionar películas de seda a través de la expresión de metaloproteinasas e integrinas. Tales resultados son alentadores porque la matriz extracelular nativa se remodela continuamente *in vivo* por la degradación proteolítica a través de metaloproteinasas y la regeneración de la matriz. La seda tiene claras ventajas sobre otros biomateriales en varios aspectos de la biodegradación. En biomateriales sintéticos como poliglicólidos y polilactidas los productos degradados se reabsorben a través de vías metabólicas, pero preocupa la liberación de subproductos ácidos. No existen estos problemas asociados con la seda. Además, los materiales sintéticos pueden reducir las propiedades mecánicas de forma temprana durante la degradación. Por otro lado, la fuerza de retención durante un largo tiempo por muchos sistemas de seda puede ser una ventaja, particularmente en la ingeniería de tejidos, donde la degradación lenta y la capacidad de soporte de carga son necesarias.^{22,23}

3.2.3. Propiedades mecánicas

La seda ofrece un equilibrio atractivo entre la resistencia a la rotura y el alargamiento, lo que contribuye a su adecuada tenacidad y ductilidad. Las curvas de tensión-deformación de las fibras de seda proveniente de gusanos de seda salvajes muestran un aspecto y un endurecimiento por deformación similares a la seda de las telas de araña. Teniendo en cuenta las ventajas excepcionales que ofrecen las propiedades mecánicas de la seda



(resistencia, elasticidad, tenacidad...), no es de extrañar que ésta haya sido objeto de estudio en el campo de la ingeniería de tejidos para el desarrollo de andamios.²⁰

Como se ha comentado anteriormente, a pesar de las propiedades presentadas por las fibras de seda nativas, la mayoría de los materiales de seda desarrollados a partir de solución de SF son débiles y quebradizos. Por ejemplo, la resistencia a la tracción en seco de la película de seda es de aproximadamente 0.02 GPa y la rotura por alargamiento es menor del 2% en comparación con fibras nativas que tienen una resistencia a la tracción de alrededor de 0.5-0.6 GPa y la rotura por alargamiento es del 10-40%. Estas diferencias pueden ser atribuidas a la falta de estructura secundaria y jerárquica apropiada en los materiales regenerados en comparación con las fibras nativas. Hay estudios recientes que muestran aspectos donde han mejorado significativamente la resistencia de los productos de las sedas regeneradas. A través de la manipulación de la estructura durante la regeneración se ha llegado a igualar o incluso a superar el grado de resistencia de las fibras nativas.^{16,20}

3.2.4. Funcionalización de la superficie

Actuar sobre la superficie de los biomateriales abarca desde cambios físicos en la superficie, en términos de rugosidad e hidrofobicidad que modulan la adhesión celular, hasta la activación de cascadas bioquímicas complejas regulatorias de la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. Los grupos reactivos que un biomaterial presenta en su superficie condicionan



el enlace químico que se puede establecer y por tanto, los ligandos posibles en esta unión. En este sentido, la fibroína presenta un porcentaje significativo de aminoácidos reactivos en su composición, 12.1% de Ser, 5.3% de Tyr, así como Thr, Glu y Asp, que pueden ser modificados con reacciones bien conocidas.^{16,20}

La reacción de carbodiimidas es la más habitual para unir proteínas o péptidos a la fibroína mediante un enlace covalente tipo amida entre ácidos carboxílicos y aminas primarias. En el caso de la fibroína se presentan varios aminoácidos con grupos carboxilo libres en cada molécula: 25 residuos de Asp, 30 de Glu y 12 de Lys. Con este método se han unido a Lys la proteína morfogenética de hueso (BMP-2), el péptido de adhesión RGD (Arg- Gly-Asp) y la enzima peroxidasa.^{16,20}

Además de su aplicación como agente fijador de tejidos biológicos, el glutaraldehído también puede ser utilizado como agente de acoplamiento inespecífico entre polímeros y moléculas portadoras de grupos amino. Así se ha utilizado para conjugar insulina a nanopartículas de fibroína e incrementar su estabilidad.^{16,20}

El desarrollo de otras estrategias para casos particulares, como son la reacción activada por cloruro de cianuro, la sulfatación de la tirosina o la modificación de la tirosina con grupos diazonio; otras posibilidades para unir moléculas a la fibroína, al margen de las uniones covalentes, son la adsorción a través de uniones de hidrógeno y uniones electrostáticas. También se han realizado trabajos en los que se aprovecha la acción de las proteasas para la liberación lenta de moléculas de interés que han quedado



físicamente dentro de las estructuras de fibroína en el proceso de fabricación.¹⁶

La SF es soluble en agua en sus formas α -helicoidales y bucles al azar. La solubilidad puede mantenerse durante días e incluso semanas, dependiendo de la temperatura de almacenamiento, pH y concentración de la solución de seda. La posibilidad de preparar biomateriales de seda mediante un proceso basado en agua y en condiciones suaves como la temperatura ambiente o un pH neutro, favorece la unión a este material de moléculas que requieren de estas características.²³

CAPÍTULO 4. PRESENTACIONES DE LA FIBROÍNA DE LA SEDA EN INGENIERÍA DE TEJIDOS

A través de procesamientos con disolventes acuosos u orgánicos, se dispone de una variedad de métodos con los cuales se generan los biomateriales de seda para una amplia gama de aplicaciones. Se incluyen métodos para fabricar hidrogeles, esponjas, tubos, materiales compuestos, fibras, microesferas y películas delgadas (*films*). (Figura 15)¹⁶

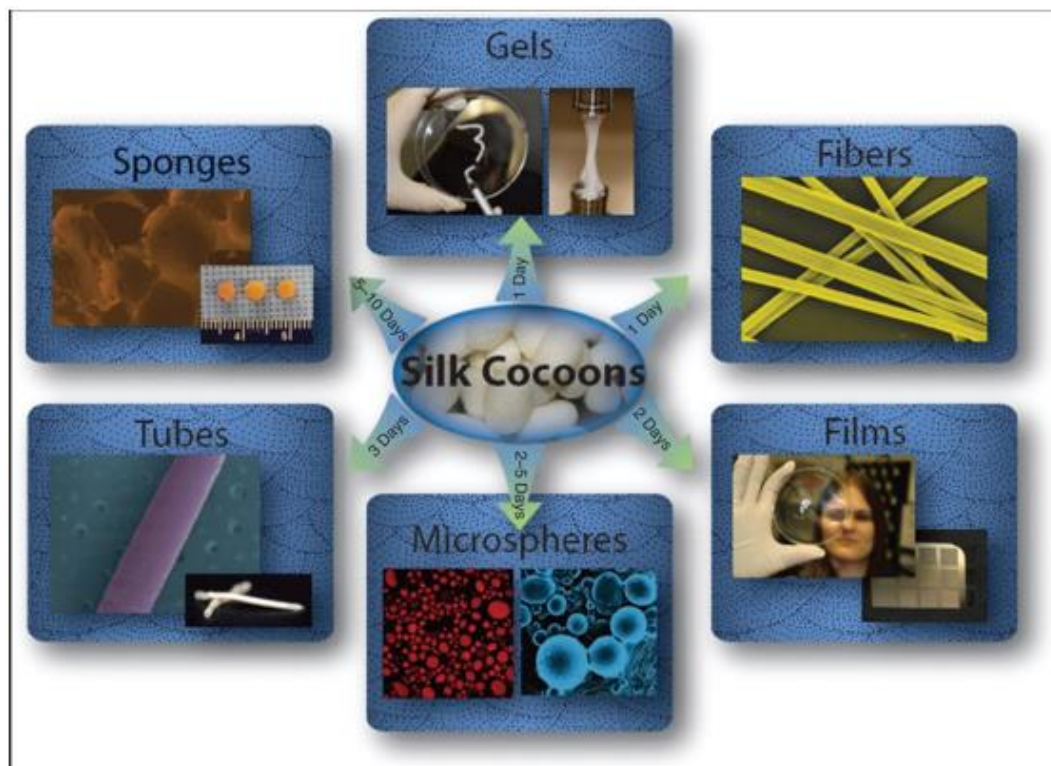


Figura 15. Presentaciones de la fibroína de la seda como biomaterial.

Esta variedad de configuraciones permite que puedan ser utilizadas directamente como biomateriales para implantes, como andamios (*scaffolds*)

en ingeniería de tejidos y en modelos *in vitro* de enfermedades, así como para la administración de fármacos.¹⁶

4.1. Mallas electrohiladas

El *electrospinning* o proceso de electrohilatura consiste en la proyección de un chorro de disolución polimérica en un campo eléctrico con una elevada diferencia de potencial, lo que consigue adelgazar el diámetro del chorro del polímero hasta una escala nanométrica gracias a las fuerzas electrohidrodinámicas que genera el campo eléctrico. Cuando el chorro se deposita sobre una superficie plana, produce una malla plana de fibras superpuestas distribuidas al azar y de elevada porosidad. El equipo necesario para llevar a cabo el electrohilado consiste básicamente de tres elementos: una fuente de alto voltaje, una bomba que alimenta al inyector capilar o aguja conectada a la corriente y una placa o cilindro colector conectado a tierra. (Figura 16)¹⁶

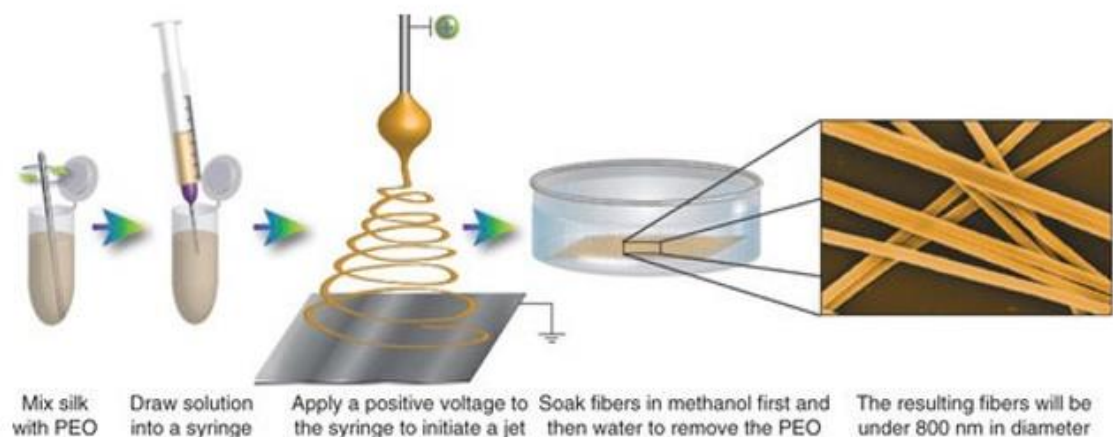


Figura 16. Proceso de electrohilado y vista macroscópica de la malla de nanofibras generada.



La realización de la técnica no ha cambiado significativamente desde su invención, atribuida a Formhals en 1934.^{5,16}

La técnica de electrohilatura tiene una larga trayectoria de aplicación en entornos industriales para la fabricación de filtros y recubrimientos, pero en la última década se ha considerado su potencial en el campo de la bioingeniería. Esto ha ocurrido tras observar la similitud entre la matriz extracelular del tejido conjuntivo animal y la configuración tridimensional que adoptan las fibras de polímero producidas por electrohilado, por lo que se puede describir como una estructura totalmente biomimética. Algo similar se había conseguido con la matriz extracelular descelularizada obtenida mediante eliminación química de las células de un tejido animal.²⁴

4.2. Films o películas transparentes

Los *films* de SF se pueden obtener a partir de la evaporación de disoluciones acuosas de esta proteína, disoluciones ácidas o en líquidos iónicos, también mediante recubrimiento por rotación y por el proceso de Langmuir-Blodgett. Para producir películas muy delgadas se han utilizado técnicas de deposición manual capa por capa o el electrohilado.^{20,22}

Para mejorar la estabilidad de estas películas es necesario controlar también la cantidad relativa de hojas β o grado de cristalización de la SF, lo que puede lograrse mediante técnicas como el secado controlado, el estiramiento y la inmersión en alcohol. A menudo, es necesario controlar las propiedades de la superficie de los *films* de seda para conseguir un crecimiento celular dirigido y mejorado o para cambiar las propiedades ópticas. (Figura 17)¹⁶



Figura 17. Película de SF, moldeado en la superficie de una placa de Petri, que pone de manifiesto la transparencia del mismo.

La litografía y sistemas de impresión avanzados se emplean para lograr tales características. El caso de los *films* elaborados con fibroína regenerada en solución acuosa da como resultado una lámina transparente de una textura y aspecto similar al celofán.^{16,23}

4.3. Hidrogeles

La fibroína acuosa se presta bien a la fabricación de hidrogeles, estructuras tridimensionales de polímeros fuertemente entrelazados que absorben gran cantidad de agua, pero no se disuelven en la misma. Las nanofibrillas de lámina beta de la fibroína presentes en la solución se entrecruzan con facilidad cuando se dan las condiciones adecuadas de pH, concentración de la solución, concentración de calcio y temperatura. Sin embargo, la



interacción entre estas variables es compleja y el proceso no es totalmente controlable, por lo que es frecuente que se produzcan gelificaciones espontáneas e indeseables en soluciones acuosas de fibroína almacenadas para su uso. La gelificación también se induce mediante la mezcla con polímeros como poloxamer y gelatina. (Figura 18)¹⁶



Figura 18. Hidrogel de SF acuosa al 1,5%.

Los hidrogeles son estructuras muy adecuadas para aplicaciones de encapsulación y liberación de células y citoquinas. Una evolución de este concepto es la combinación de seda y elastina para formar SELPs, polímeros proteicos mixtos de seda/elastina, que en su fabricación permiten un control muy definido de sus características.^{16,22}

Los hidrogeles de seda se forman a través de la transición solución-gel (sol-gel) de una solución acuosa de fibroína de seda en presencia de ácidos, agentes deshidratantes, iones, sonicación o liofilización. La transición sol-gel puede ser acelerada por el aumento de la concentración de proteína,



temperatura, y la adición de Ca. Los hidrogeles de seda pueden ser útiles como sistemas inyectables o sistemas de administración no inyectables. Las propiedades mecánicas de la seda en forma de hidrogeles han mostrado propiedades adecuadas para la preparación de andamios, que necesitan soportar carga, como en el caso de la regeneración de cartílago.^{22,23,25}

4.4. Matrices o esponjas porosas 3D

Las esponjas porosas tridimensionales son estructuras ideales para su utilización en ingeniería de tejidos, ya que imitan estrechamente el microambiente fisiológico *in vivo*.¹⁶ Los *andamios* de seda se preparan por liofilización, lixiviación del porógeno y técnicas de fabricación libres de sólidos. Las esponjas liofilizadas poseen tamaños de poro por debajo de 100 μm , variable que puede controlarse mediante el ajuste de la temperatura de congelación, pH de la solución y la cantidad de disolventes orgánicos empleados. (Figura 19)¹⁶

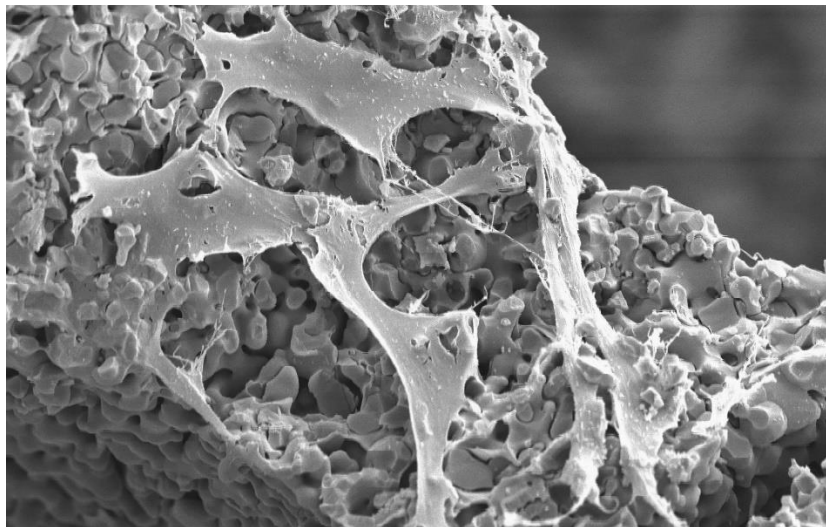


Figura 19. Ultraestructura de esponjas porosas de fibroína sembrada con células madre mesenquimales de médula ósea.



El tamaño de los poros puede aumentar de 60 a 250 μm con procesos repetidos de congelación y descongelación. A partir de métodos como la lixiviación de partículas mediante el uso de disolventes o la formación de espuma mediante gases, puede obtenerse un mejor control sobre la estructura de poro. El dominio que se ha conseguido sobre la porosidad de los andamios 3D en la SF ha favorecido su aplicación en ingeniería de tejido óseo y cartílago fundamentalmente.^{22,23}

Los andamios de seda se preparan mediante secado por congelación, lixiviación de porógenos y técnicas de fabricación libres de sólidos.²²

4.5. Micro y nanopartículas

Las micro y nanopartículas de seda se producen por liofilización y molienda, secado por pulverización, auto-ensamblaje y congelación-descongelación, a partir de una solución de seda. La fibra de seda en polvo es un enfoque alternativo para conseguir partículas de seda directamente de las fibras sin necesidad de utilizar ningún producto químico. Mientras que las partículas en polvo se utilizan para reforzar andamios y mejorar las propiedades mecánicas y los resultados al trabajar con células, las partículas de seda regenerada se utilizan principalmente en el transporte de fármacos. Una línea de investigación interesante es averiguar si las partículas pueden desempeñar la doble función de mejorar las propiedades mecánicas de los andamios y actuar como portadores de factores de crecimiento para la regeneración rápida de tejidos.^{16,22,23}



CAPÍTULO 5. APLICACIÓN DE LA SEDA EN MEDICINA REGENERATIVA

La fibroína presenta características que la hacen muy interesante como biomaterial: es un material de naturaleza proteica, altamente biocompatible.²⁶ No se verifica rechazo, ni respuesta inflamatoria en los tejidos donde se injerta. El rechazo ocasional que se ha reportado con algunas suturas, se atribuye a la contaminación de la fibroína con sericina.²⁷ Presenta una gran resistencia mecánica a la tracción, junto a gran flexibilidad. Es biodegradable, pero a un ritmo más lento que otros biomateriales orgánicos, lo que permite mejor consolidación de los tejidos. En 2 años se reabsorbe totalmente y no se encuentran rastros de la misma en los tejidos.²⁸

Por otra parte, las películas, fibras y geles de fibroína, han sido estudiados con diferentes tipos de células incluyendo fibroblastos, células epiteliales, células endoteliales, células gliales, queratinocitos, hepatocitos, osteoblastos y células estromales de la médula, y han dado resultados prometedores al uso de fibroína como un implante como biomaterial.²⁹

Los avances que se han producido en la última década con la aplicación de herramientas de biología molecular y celular han desarrollado nuevos conceptos terapéuticos en biomedicina que han abierto nuevos campos como son la Medicina Regenerativa y la Ingeniería de Tejidos.²⁹ (Figura 20)



Figura 20. Aportación de la fibroína en la Regeneración de Tejidos. Fuente propia.

El componente principal de la Medicina Regenerativa es sin duda el conocimiento detallado de la biología y manejo de las células madres. Ello abre la posibilidad de producir tejidos humanos nuevos, capaces de reemplazar a tejidos lesionados, para evitar el riesgo de rechazo del sistema inmune. Por otro lado, en la Ingeniería de tejidos su componente principal es el biomaterial en el que esas células han de crecer, diferenciarse e integrarse en los lugares adecuados del organismo receptor. Entre de estos biomateriales se encuentra la seda que es un monofilamento (fibra) de proteína producida por las glándulas salivales del gusano de seda *Bombyx mori*.²⁹

La aplicación de la seda como biomaterial, en su uso como suturas quirúrgicas, fue temprana y data del siglo XIII. Sin embargo, los nuevos conocimientos



adquiridos sobre las propiedades y estructura de la seda, han abierto su uso a nuevas aplicaciones, tanto en la industria cosmetológica como en la industria biomédica.²⁸

Varios de estos tipos de biomateriales se producen en el mundo animal. El capullo del gusano de seda, tela de araña, lana de oveja y muchos moluscos son ejemplos conocidos. En cada uno de estos casos se trata de hilar una estructura que está hecha de proteína, muy resistente a los agentes atmosféricos y mecánicamente perfectos. Tan complejos que son inimitables, en muchos casos, por materiales sintéticos. En el mundo de los insectos, los lepidópteros son incansables fabricantes de fibras sedosas. En el caso de la seda, los tejidos de filamentos son un ejemplo vivo de co-extrusión, una maravilla de la ingeniería genética de la naturaleza.³⁰

La sustitución de una parte del cuerpo humano con un biomaterial requiere una buena comunicación entre el receptor y el sistema implantado, para llegar a un resultado exitoso. Las limitaciones de los implantes existentes abarcan desde baja calidad del material o rápida degeneración hasta deformaciones en el material o un costo muy elevado. A continuación, se ofrece una relación de los trabajos orientados a superar estas limitaciones mediante el empleo de biomateriales basados en SF a través de las distintas presentaciones comentadas en el apartado anterior.¹⁶

5.1. Aporte de la fibroína en la regeneración del tejido dental

La regeneración de tejidos usando células, factores de crecimiento y soportes constituyen una alternativa en la Medicina Regenerativa. La fibroína de seda



es un excelente biosoporte, sus propiedades mecánicas únicas le permiten soportar procesos de adhesión y crecimiento celular. Se evaluó la fibroína de la seda obtenida del gusano de seda *Bombyx mori* como material de soporte para el crecimiento de células mesenquimales estromales de pulpa dental (CMPD). La fibroína obtenida a partir de capullos de gusanos de seda *Bombyx mori* criados en la Granja El Píamo, propiedad de la Universidad Tecnológica de Pereira (Colombia), se empleó para la fabricación de películas de fibroína íntegras y resistentes a condiciones de cultivo. Las CMPD fueron obtenidas a partir de un donante de diente premolar, la pieza dental se cortó con disco de diamante para la obtención de la pulpa que fue sometida a disgregación enzimática. Las células obtenidas se subcultivaron hasta el segundo pase, para posteriormente transferirse a cajas de cultivo que contenían películas de fibroína, se sometieron a condiciones inherentes al proceso de incubación y se siguió su crecimiento y viabilidad celular durante 27 días.³¹

Los resultados obtenidos al final del periodo de incubación, fue que se observaron películas íntegras, estables y resistentes que permitieron el crecimiento celular.³²

El uso de la fibroína como biomaterial acompañado de otros polímeros, ha sido ampliamente utilizado con fines de investigación. Estudios recientes han realizados por soportes combinados de fibroína/ácido hialurónico para el cultivo de células madre mesenquimales, esta combinación favorece la respuesta de estímulos regenerativos de gran interés científico en la Medicina Regenerativa.³³ Entre otros estudios combinaron biomateriales de fibroína/quitosano y obtuvieron resultados exitosos y prometedores, al utilizar esta combinación de biomateriales junto con células madre mesenquimales de



medula ósea en la reparación de lesiones en rodillas de conejos.³⁴ En otro estudio realizado utilizaron esta combinación junto con células madre de tejido adiposo para el desarrollo de un injerto de nervio artificial que regeneró una lesión del nervio ciático inducida quirúrgicamente en modelo de rata.³⁵ La fibroína como andamio se ha utilizado recientemente para la reconstrucción de núcleo pulposos, y ha mostrado ser un biomaterial poroso con propiedades mecánicas únicas, que proporciona un microambiente adecuado para promover el crecimiento de células de núcleo pulposos, la infiltración y secreción de matriz extracelular.³⁶ Recientemente, se ha reportado el uso de microcápsulas de fibroína para la liberación controlada de fármacos y la utilización única o combinada de carbono, polietilenglicol, ácido poli-aspartico, ácido poliláctico y polímeros naturales como colágeno, quitosano, elastina, ácido hialurónico y queratina para la regeneración de diferentes tejidos. El uso de células madre es una alternativa promisorio para las aplicaciones en la terapia celular por su capacidad de autorenovación, proliferación y potencial de diferenciación a diferentes linajes de células especializadas.³⁷ De acuerdo a la *International Society for Cellular Therapy*, la denominación de célula madre mesenquimal es limitada a las células progenitoras multipotentes no hematopoyéticas aisladas y propagadas por clonaje in vitro, aptas para diferenciarse a los linajes celulares de osteoblastos, condrocitos y adipocitos, capaces de expresar marcadores moleculares de superficie específicos. En este contexto, el uso de células madre con fines terapéuticos también debe considerar su interacción con biomateriales que les permita alcanzar estabilidad intercelular y con la matriz extracelular bajo una arquitectura predeterminada. Las células mesenquimales estromales de pulpa dental constituyen un excelente candidato para esta finalidad, son un tipo de células con capacidad adherente y potencial de diferenciación a varios linajes



celulares incluyendo osteoblastos, odontoblastos, adipocitos y células neuronales. Estas células han mostrado interactividad con biomateriales para aplicaciones en la ingeniería de tejidos.³⁸

En este contexto, la fibroína de seda se ha utilizado ampliamente en la ingeniería de tejidos duros y blandos; sus diversas características entre las que se incluye su biocompatibilidad y capacidad de apoyar la proliferación y diferenciación de diversos tipos celulares, la hace un atractivo candidato terapéutico en la terapia para enfermedades periodontales.³⁶

Enfermedades cardíacas, diabetes y obesidad son las enfermedades dentales típicas a nivel mundial, sin embargo, los pacientes con enfermedades dentales son muy superiores en número a los anteriormente descritos y son responsables de enormes costos para los proveedores de servicios médicos. La mayoría de los procedimientos dentales y maxilofaciales comprenden restauraciones de dientes simples a reconstrucción de los tejidos blandos y mineralizaciones faciales. En los Estados Unidos, las enfermedades periodontales afectan del 4-12% de los adultos, una cuarta parte de esta población, mayores de 65 años, han perdido todos sus dientes, casi todas las personas de edad avanzada han tenido los dientes artificiales o se han sometido a algún tipo de cirugía dental. Hasta la fecha, los materiales y las opciones de tratamiento disponibles tienen una capacidad limitada para reemplazar tejidos enfermos, infectados, traumatizados y/o perdidos. Están disponibles varias estrategias de tratamiento para los problemas dentales y la investigación en curso se centra en el desarrollo de nuevas terapias basadas en ingeniería de tejidos. El futuro potencial de la ingeniería dental es el uso de



biomateriales como la fibroína de seda que favorezcan procesos e adhesión, crecimiento y diferenciación celular.³⁷

Se ha demostrado la capacidad de la fibroína de seda para soportar la adherencia, crecimiento y multiplicación de células mesenquimales estromales obtenidas de cultivo primario de pulpa dental. Se identificó que la técnica de cristalización por wáter annealing es una técnica adecuada, que permite que la película de fibroína mantenga sus propiedades mecánicas en condiciones de cultivo celular y tratamiento de proteasas con la tripsina.^{36,37}

Este andamio se caracteriza por sus propiedades mecánicas únicas, su tasa de degradación y su biocompatibilidad. Los resultados experimentales in vitro demostraron que este soporte no afecta la viabilidad, concentración y morfología celular, por tanto, este biomaterial podría proporcionar un microambiente adecuado para apoyar el crecimiento de células madre en un modelo in vivo, sin embargo, se recomienda realizar una caracterización mecánica, biológica y molecular del soporte de fibroína de seda que demuestre que esta proteína permite favorecer procesos de diferenciación de diversas poblaciones celulares incluyendo células mesenquimales estromales de pulpa dental hacia fenotipos odontoblásticos orientados a la regeneración dentodpular. Por tanto, se sugiere realizar nuevos estudios con diferentes tipos de poblaciones celulares y variaciones es la estructura física del biomaterial que permitan corroborar el uso de fibroína como material de soporte útil en la regeneración de tejidos y reparación de órganos. Finalmente, la fibroína como biomaterial es capaz de soportar el crecimiento celular, así como ofrecer las condiciones inherentes al proceso de incubación in vitro, por lo qué, la



aplicación de soportes basados en fibroína de seda son un modelo factible en la ingeniería de tejidos.^{36,37,38}

5.1.2. Suturas funcionalizadas con nanomateriales para cirugía oral

La sutura es una parte vital de casi todos los procedimientos quirúrgicos; se utiliza para unir la superficie de la piel y la ligadura de vasos, está diseñada para cerrar, estabilizar los márgenes de la herida y permitir la cicatrización;³⁹ se coloca dentro de tejidos de alta vascularización en un ambiente rico en bacterias húmedas con potencial infeccioso.⁴⁰ Para cumplir con su función estos materiales deben satisfacer características biológicas tales como ser antibacteriana, no presentar reacción tisular o histocompatibilidad y reabsorción,⁴¹ así como características físicas, mecánicas y de manipulación (resistencia a la tracción del nudo o tenacidad, elasticidad, calibre, capilaridad y superficie).^{41,42}

La contaminación de los materiales de sutura es uno de los factores de riesgo de desarrollar una infección en la zona quirúrgica debido a la presencia de microorganismos en las suturas.^{43,44}

Las características físico químicas influyen en su capacidad para atraer las bacterias y, por consiguiente, promueven la infección de la herida. Es decir, la adhesión de las bacterias dependerá de los tipos de suturas, por ejemplo, las de multifilamento y trenzado producen una reacción inflamatoria mayor en la mucosa oral que las suturas de monofilamento debido a las bacterias adheridas en los intersticios de las suturas trenzadas, que pueden ser protegidas de la actividad fagocítica de los leucocitos, sosteniendo así aún



más la prolongación de una infección. Las suturas absorbibles se componen de proteínas naturales de materiales que se digieren bien por enzimas del cuerpo o hidrolizadas por fluidos tisulares y también son susceptibles a la adhesión bacteriana y a la colonización.⁴⁵

De acuerdo con ensayos clínicos aleatorios y experimentales, al recubrir las suturas ya sea con triclosán o con extractos naturales, se puede prevenir la infección del sitio quirúrgico. Asimismo, suturas nanoestructurales, obtenidas por un proceso de plasma, que fueron utilizadas en experimentos animales, mostraron que también pueden prevenir la fijación de bacterias sin comprometer la biocompatibilidad de las suturas.⁴⁶

En la práctica odontológica la sutura es un procedimiento esencial y frecuente para las áreas de periodoncia, implantología, cirugía oral y maxilofacial. En cirugía oral las suturas se utilizan después de la extracción quirúrgica de los terceros molares y en la cirugía de implantes, entre otros procedimientos. Sin embargo, durante el postoperatorio, frecuentemente se presenta inflamación, sangrado, dolor e incluso infección. Esta última depende de varios factores, entre los que podemos citar el uso de material parcialmente estéril, uso inadecuado de antibiótico o higiene deficiente del paciente en el área de la cirugía. Otros factores son las infecciones adquiridas en el hospital acompañadas de las bacterias resistentes a los antibióticos particularmente *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina, y que puede causar graves complicaciones en los tejidos blandos, huesos o en implantes.⁴⁷

Se sabe que en la actividad oral existen más de 700 especies de bacterias, de las cuales, 109 pueden sembrarse en el torrente sanguíneo aumentando el



riesgo de una enfermedad cardiaca. Entre las principales bacterias asociadas con las infecciones orales están las aeróbicas; *Streptococcus milleri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Estafilococos coagulasa* negativos y las anaerobias *Fusobacterium nucleatum*, especies de *Prevotella*, *Porphyromonas* y especies de *Peptostreptococcus spp* las cuales en conjunto forman una biopelícula, una comunidad bacteriana encapsulada dentro de una sustancia polimérica extracelular autosecretada y responsable de una amplia gama de infecciones crónicas relacionadas con dispositivos médicos.⁴⁸

Queda claro que los materiales de sutura pueden ser considerados factores de riesgo intrínseco para la cicatrización de la herida quirúrgica, para infecciones de heridas postoperatorias y complicaciones asociadas, como la infección del hueso, bacteriemia, abscesos en órganos, endocarditis o incluso sepsis. Estas infecciones postoperatorias son complicaciones relativamente frecuentes en cirugías orales, que ocurren en aproximadamente el 2-12% de los casos, con mayor riesgo de complicaciones graves en los pacientes con enfermedades crónicas, como diabetes y enfermedades del corazón. Pero en particular debido a la capacidad de las bacterias patógenas para adherirse a las fibras en forma de biopelícula lo que retrasa la cicatrización. En diferentes trabajos se han usado algunos nanomateriales antimicrobianos como recubrimiento de la sutura como alternativa para reducir el riesgo de infección en la zona quirúrgica.⁴⁹

A continuación, se presenta una revisión sistemática de artículos que refieren las ventajas del uso de suturas funcionalizadas con nanomateriales para inhibir la presencia de bacterias presentes en la cavidad oral. Se presentan por apartados los distintos tipos de nanomateriales que son frecuentemente



utilizados y los más eficaces para funcionalizar las suturas implementando una característica antimicrobiana.⁴⁹

5.1.2.1. Péptidos antimicrobianos

Cecropina B

Las películas de fibroína de seda *Bombyx mori* han sido modificadas con cecropina B (NH₂)-NGIVKAGPAIAVLGEAAL-CONH₂, mediante el método de química de la carbodiamida. La seda fue tratada con una solución al 60% (v/v) de etanol acuoso para evitar la disolución de las películas durante el procedimiento de modificación y dio como resultado una transición estructural.

La superficie de la seda modificada con el péptido antimicrobiano presentó actividad antimicrobiana satisfactoria y durabilidad cuando se activó con una solución de EDC·HCl/NHS seguido de un tratamiento en una solución de PBS (pH 6.5 u 8) a temperatura ambiente durante 2 horas. La superficie de la película también mostró un ángulo de contacto hidrófilo, esencial para la adhesión y proliferación celular. Así mismo, la modificación con los péptidos aumentó la rugosidad de la fibra, los cuales se acoplaron herméticamente a la superficie de la seda.⁵⁰

5.1.2.2. Iones metálicos

Cationes metálicos (Ag⁺, Cu²⁺)

Fibras de seda se modificaron con solución de ácido tánico (TA) o por acilación con etilendiaminotetracético dianhídrido (EDTA-DA). Se investigó la cinética del complejo metal-amino por modificación con TA y acilación con EDTA-DA. Las propiedades físico-mecánicas de las fibras de seda aciladas con EDTA-



DA se mantuvieron sin cambios, independientemente de la modificación química. Se estudió la absorción de cationes metálicos (Ag^+ , Cu^{2+}) por las fibras de seda no tratadas y modificaciones en función del tipo de agente modificador, el aumento de peso y el PH de la solución metálica por medio de espectroscopía de emisión por plasma de acoplamiento inductivo. La absorción de Cu^{2+} a PH alcalino no fue influenciada significativamente por la modificación química del sustrato de seda. La absorción de Ag^+ por la seda acilada con EDTA-DA se mantuvo igual de baja que en la seda sin tratar, mientras que fue mejorada e la modificada por TA. Los resultados demuestran que cuanto mayor sea el contenido de TA, mayor es la absorción de Ag^+ , confirmando que las fibras de seda aciladas por EDTA-DA acompañadas de metales (Ag^+ y Cu^{2+}) exhiben actividad antibacteriana significativa frente a *Cornebacterium*.⁵¹

5.1.2.3. Polímeros

Recientemente, se han utilizado polímeros que poseen funciones únicas para la fabricación de recubrimientos de nanocompuestos con nanoplatea para una mejor biocompatibilidad y actividad antibacteriana. Esta opinión se inicia con el progreso en el mecanismo antibacteriano y efectos citotóxicos de nanopartículas de plata. A continuación, se analizan las funciones antibacterianas de los polímeros.⁵¹

Quitosano

Se ha estudiado la modificación de la superficie de la fibra de seda usando anhídridos para adherir el quitosano polisacárido y la capacidad de teñido de la seda modificada. La fibra de seda se desgomó y aciló con 2 anhídridos: anhídrido succínico y anhídrido ftálico en diferentes disolventes (dimetil



sulfóxido y dimetilformida). El quitosano polisacárido se injertó a la fibra de seda acilada y fue teñida por colorante ácido. Se estudiaron los efectos del pH, la concentración de quitosano y el tiempo de reacción en el injerto de quitosano en la seda acilada. Las propiedades físicas muestran cambios sensibles sin tener en cuenta el aumento de peso. La microscopía electrónica de barrido mostró la presencia de materiales firmemente unidos a la superficie de la seda, los cuales fueron validados por espectroscopía infrarroja al evidenciar que el quitosano se injertó en la seda acilada a través de la formación de nuevos enlaces covalentes.⁵² El teñido de la fibra de seda acilada unida al quitosano indica la mayor capacidad colorante en comparación con las muestras de seda solamente aciladas o desgomadas. Se propuso el mecanismo de injerto de quitosano sobre seda desgomada a través de uniones anhídrido. Los resultados de esta investigación apoyan el potencial de producción de nuevas fibras textiles ecológicas. Vale la pena mencionar que las muestras injertadas tienen potencial antibacteriano debido a la propiedad antibacteriana de las moléculas de quitosano.^{53,54}

Poli(ácido acrílico)/poli(cloruro de dimetildialilamonio)

Capa por capa es una técnica versátil para la preparación de películas poliméricas de varias capas. Sin embargo, la fabricación de la película polimérica sobre la seda para el crecimiento *in situ* de alta densidad de nanopartículas de plata (AgNPs) no se había realizado. Se utilizó poli(ácido acrílico)/poli(cloruro de dimetildialilamonio) para colocar las múltiples capas, que sirvió como una matriz de 3 dimensiones para la síntesis *in situ* de AgNPs. Después de 8 rondas de montaje de capas la seda estuvo totalmente cubierta con una película polimérica. AgNPs con buena estructura cristalina puede ser generada *in situ* en las multicapas de la seda con recubrimiento. La



seda modificada podría matar efectivamente las bacterias existentes e inhibir el crecimiento bacteriano, y comprobar la actividad antimicrobiana. Por otra parte, la liberación de Ag^+ de la seda modificada puede durar 120 horas, lo que ofrece actividad antimicrobiana sostenible. Estos hallazgos promueven un nuevo método para preparar seda antimicrobiana funcionalizada con AgNPs para aplicaciones potenciales en la industria textil.⁵⁵

Poliuretano con nanopartículas

Las aplicaciones potenciales de las nanopartículas como agentes antimicrobianos se han investigado y ofrecen grandes oportunidades para hacer frente a varios problemas de brotes virales y bacterianos. Los poliuretanos (PU) son una clase de materiales poliméricos que tienen aplicaciones en diversas áreas de la ciencia biomédica. Nanopartículas de óxido de cobre (CuO) de tamaño medio (~ 50 nm) fueron incrustadas en una matriz de PU a través de 2 procesos de fabricación eléctricos. Para dilucidar la actividad antimicrobiana, una serie de diferentes composiciones de CuO dentro de la matriz PU (0%, 1%, 5% y 10% w/w) se electrohilieron para formar películas porosas delgadas (espesor < 10 μm). Después del lavado de las películas se ensayaron sus propiedades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Se demostró que con 10% w/w CuO durante un período de 4 horas que disminuyeron significativamente las poblaciones bacterianas. Este enfoque demuestra el potencial de generar estructuras antimicrobianas para una serie de aplicaciones, tales como filtros de diseño, revestimientos estampados, tejidos transpirables, películas adhesivas (a diferencia de las suturas) y el apoyo a las estructuras mecánicamente.⁵⁶



5.1.2.4. Nanomateriales

Nanopartículas de plata

La fabricación de seda modificada con AgNPs para la actividad antibacteriana es uno de los temas actuales en la investigación de biomateriales.⁵⁷

A pesar de que la seda podría proporcionar una gran cantidad de propiedades únicas, la naturaleza de la proteína hace que sea una matriz para la adherencia bacteriana, lo que lleva a su degradación o deformación. Otras aplicaciones de materiales a base de seda se han visto obstaculizadas en gran medida por la adherencia y el crecimiento fácil de bacterias.

En los últimos años se han dedicado enormes esfuerzos a la elaboración de fibras de seda únicas con actividad antibacteriana. La modificación de la superficie con sustancias antimicrobianas es uno de los métodos más aceptables y las AgNPs son las más atractivas debido a que tienen un amplio espectro de efectos antibacterianos en las bacterias Gram- negativas y Gram-positivas.⁵⁷

Se menciona que al hacer ensayos de curva de crecimiento y zonas de inhibición bacteriana utilizando un polímero (polidopamina), tanto como matriz tridimensional como reductora para la síntesis in situ de AgNPs en fibras de seda, demostraron claramente la propiedad antibacteriana de la seda funcionalizada. Este trabajo puede proporcionar un nuevo método para la preparación de la seda funcionalizada con AgNPs y su actividad antibacteriana para la industria.⁵⁷



Nanopartículas de dióxido de titanio

Se ha diseñado una técnica de modificación de la superficie para la fabricación de múltiples materiales de seda; se han desarrollado con éxito nanocompuestos textiles mediante la funcionalización de la seda con TiO_2 y nanopartículas de TiO_2 -AgNPs. Las NPs se montan sobre un sustrato de seda a través de enlaces covalentes, incluyendo el enlace de óxido enodiol- metal, la deshidratación de resina y la acilación de la seda. Debido a la fuerte unión química, la tela de fibroína de seda (SFF) y las NPs, formaron un sistema compuesto estable. Las SFF con TiO_2 -AgNPs están dotadas de notables propiedades de protección UV y capacidad antibacteriana eficiente hacia *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Además, la fotodegradación casi total de naranja de metileno bajo iluminación UV ilustra que las SFF funcionalizadas poseen alta fotocatalisis y la capacidad de autolimpieza. Este material de seda multifuncional satisface la demanda del mercado de los “productos” inteligentes “naturales”, y es un material práctico y prometedor para su uso en la industria textil, la esterilización de hospitales y la limpieza del medio ambiente.⁵⁸

Nanopartículas de dióxido de cerio

Para dotar a la seda la capacidad de blindaje de UV y la actividad antibacteriana, las nanopartículas de CeO_2 se inmovilizaron sobre la superficie de seda a través de un recubrimiento por inmersión sin cambiar la estructura de la seda. La densidad de la superficie de las nanopartículas se pudo ajustar fácilmente mediante el control del número de ciclos de recubrimiento por inmersión. La estabilidad térmica mejorada de la seda modificada se exhibe en el análisis termogravimétrico y análisis termogravimétrico derivado. La excelente capacidad de protección UV y la propiedad antibacteriana de la seda



recubierta con nanopartículas de CeO_2 se demuestran en espectroscopía de reflectancia difusa UV-vis y el ensayo de capacidad de formación de colonias, respectivamente. Basándose en los datos, se puede concluir que las nanopartículas de CeO_2 podrían ser utilizadas como un material de revestimiento muy prometedor para modificar seda con protección UV y aplicaciones antibacterianas.⁵⁹

Nanopartículas de plata con hidrocoloide

Las nanopartículas de plata cubiertas con alginato de sodio se depositaron capa por capa en las suturas quirúrgicas y se caracterizan por su actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. La concentración de alginato de sodio usado en la etapa de síntesis se varió de 5 mM a 0.1 mM, y se encontró que tienen un efecto importante en la actividad antimicrobiana final de la fibra. El depósito de capa por capa de las nanopartículas de plata con poli (cloruro de dialildimetilamonio) (PDAD-MAC) se estudió primero en portaobjetos de vidrio mediante el control de los cambios en la absorbencia a 400 nm que corresponden a la banda plasmónica de las AgNPs. El proceso de deposición capa por capa se concluyó a partir del incremento lineal en la absorbancia de la película en función del número de capas depositadas. La misma técnica de deposición se aplicó entonces a las suturas quirúrgicas de poliamida y la menor concentración de alginato produjo la mayor eficacia antimicrobiana. Estos resultados sugieren que la afinación del producto utilizado en el paso de síntesis influye fuertemente en la actividad antimicrobiana posterior de las nanopartículas.⁶⁰



Nanopartículas de plata con polilisina hiperramificada

El objetivo de este estudio fue desarrollar un recubrimiento antimicrobiano activo a largo plazo para suturas quirúrgicas. Con este fin se sintetizaron 2 nanocontenedores poliméricos insolubles en agua basados en polilisina hiperramificada (HPL), hidrófobicamente modificados, ya sea con el uso de glicidilo hexadecilo o una mezcla de cloruro de estearoilo/palmitoilo (FA). AgNPs altamente estabilizadas (2-5 nm de tamaño) se generaron mediante la disolución de nitrato de plata en las soluciones de HPL modificadas en tolueno, seguido de un proceso de reducción con ácido L-ascórbico. Suturas quirúrgicas a base de poli (ácido glicólico) fueron recubiertas por inmersión con los 2 nanocompuestos poliméricos de plata diferentes (AgNP/palmitoilo y AgNP/éter de glicidilo hexadecilo). Las suturas recubiertas presentaron alta eficacia en la reducción de más del 99,5% de adhesión de las células vivas de *Staphylococcus aureus* sobre la superficie, en comparación con la sutura sin recubrimiento. Experimentos de liberación de plata de las suturas modificadas HPL-AgNP a través de lavados con solución salina tamponada con fosfato mostraron una liberación constante de iones de plata durante más de 30 días. Después de este período de lavado, las suturas mantuvieron sus altos grados de acción contra la adhesión bacteriana. Los ensayos de citotoxicidad en células L929 de fibroblastos de ratón mostraron que los materiales básicamente no son citotóxicos.⁶¹ De acuerdo con la revisión realizada podemos afirmar que en los últimos años se han hecho grandes investigaciones sobre suturas recubiertas con nanomateriales, y han demostrado que su uso puede disminuir la incidencia de infección, mejorando el proceso de cicatrización de la herida. Sin embargo, algunas de estas investigaciones son de laboratorio y se necesitan más estudios que comprueben la eficacia clínica de los productos antimicrobianos probados.⁶¹



CONCLUSIONES

Se plantea el uso de fibroína como un biopolímero natural que brinda un soporte mecánico, un microambiente óptimo y un mimetismo de la estructura organizacional de los tejidos, postulándose como un potencial biomaterial para procesos de crecimiento celular en Medicina Regenerativa e Ingeniería de Tejidos.

La regeneración tisular para terapéutica es uno de los objetivos específicos más críticos orientados a lograr la funcionalidad de los sistemas vivos. El tejido construido debe interactuar de manera exitosa con el sistema inmunológico de los organismos en los cuales se implanta. Los diseños basados en seda permiten un fácil control de la morfología de la matriz, una tasa de degradación y adhesión conforme a los tejidos subyacentes con baja toxicidad inmunológica y adecuada biocompatibilidad.

La comprensión de la estructura de la seda y el procesamiento de esta, así como la funcionalización con otros compuestos abren nuevas oportunidades en el uso de diversas formas de seda en la regeneración de tejidos. Los sistemas de seda serán particularmente útiles para aplicaciones que requieren procesos lentos de biodegradación y óptimas propiedades mecánicas, para la regeneración de hueso, ligamentos y tejidos musculo-esqueléticos. La exitosa aplicación de materiales basados en seda en la ingeniería de tejidos depende de lograr una mayor comprensión a largo plazo de la biocompatibilidad, biodegradabilidad, junto con la capacidad de generar andamios de seda de acuerdo a la morfología específica del tejido a regenerar. La implementación de biomateriales basados en seda requerirá del fortalecimiento de redes de



trabajo que implican disciplinas de las Ciencias Biológicas, Médicas y de Ingenierías para estudiar y adecuar en forma exitosa las propiedades de estos materiales en Ingeniería de Tejidos.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa. Instituto Nacional de Bioingeniería e Imágenes Biomédicas 2013: https://www.nibib.nih.gov/sites/default/files/Ingenier%C3%ADa%20de%20Tejidos%20y%20Medicina%20Regenerativa_0.pdf
2. Benítez A. Gamaliel. Medicina regenerativa y terapia celular. Rev. Mexicana de Medicina Transfusional 2011; 4: 70-77.
3. Amalvy I. Javier. Nanotecnología e Ingeniería de Tejidos. Rev. Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias 2017; <http://aargentinapciencias.org/2/index.php/nanotecnologia/120-nanotecnologia-e-ingenieria-de-tejidos>
4. Contreras Vargas Jannen, Mainou Cervantes Luisa, Antuna Bizarro Silvia. Alteración de hilos de bordados de seda: modificaciones morfológicas, de color y resistencia mecánica. Rev. Internacional de Conservación, Restauración y Museología. 2012; 3(6): 26-33.
5. García Montalbán Mercedes. Propiedades de Líquidos Iónicos y su Aplicación a la Síntesis de Nanopartículas de Fibroína de Seda. Universidad de Murcia. Facultad de Química. 2016; <http://hdl.handle.net/10201/51510>
6. Gaviria A. Duverney, Aguilar F. Enrique, Ramírez L. Liliana, Alegría Álvaro. Caracterización molecular de líneas de Bombyx mori (Lepidoptera: Bombycidae) mediante AFLP. Revista Colombiana de Entomología; 2006; 32(2): 221-226.
7. Basso, CP; Dobler. S; López Zieher. X, Bartolini, N. Híbridos y líneas endocriadas de gusanos de seda (Lepidoptera: Bombyx mori L.): resultados productivos preliminares. Rev. InVet, 2014; 16(1): 31-38.
8. Aules Soto Edwin Efraín, Quijije Barreto Juan Carlos. Caracterización de microfibras de fibroína de seda obtenidos a partir de la técnica de electrohilado. Carrera de Ingeniería Mecánica. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Matriz Sangolquí. 2016, <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/12138>
9. Elices Calafat Manuel. Materiales biológicos y biomateriales. Real Academia de Ciencias. Rev. Dialnet. 2001; 7: 113-125.



10. Casadio Adriana, Pescio Francisco; Introducción a la Sevicultura; Rev. Red Latinoamericana de la Seda 2008; 2:13.
11. Tamura T, Thibert C, Royer C, Kanda T, Abraham E, Kamba M., Komoto, N., Thomas, JL., Mauchamp, B., Chavancy, G., Shirk, P., Fraser, M., Prudhomme, JC., Couble, P; Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a *piggyBac* transposon-derived vector. Rev. Nat Biotechnol 2000; 18:81-84.
12. Díaz Sánchez Adrián A; Corzo López Mylene, Báez Arias Michel, Espinosa Castaño Ivette, Prieto Abreu Marlene, Fiallo Madruga Roberto C; Pérez Hernández María del Carmen, Martínez Zubiaur Yamila. Bacterias patógenas de larvas de *Bombyx mori* L. en áreas de reproducción en Cuba. Rev. Protección Veg. 2014; 29(3): 216-219.
13. Guevara Ángel; Tupiza Amores Fernanda Paulina. Aprovechamiento de las proteínas de la seda *Bombyx mori* en la preparación de cosméticos y soportes para el crecimiento de tejidos. Facultad de Ingeniería en Biotecnología. ESPE. Sede Sangolquí 2010, <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/563>
14. Pabón Montealegre María Victoria. Seda natural de Colombia para el mundo. Rev. Universitas Científica. Revista de divulgación científica y académica 2012; 15(2): 1-4.
15. Elices Calafat Manuel, Pérez Rigueiro José, R. Plaza Baonza Gustavo R; Guinea Tortuero Gustavo V. Usos médicos de la seda. Rev. Investigación y Ciencia 2011; http://www.academia.edu/939311/Usos_m%C3%A9dicos_de_la_seda
16. Vera Sánchez María del Mar. Efectos de films de fibroína de seda/óxido de grafeno vs fibroína de seda/óxido de grafeno reducido sobre células madre humanas de ligamento periodontal. Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y Medicina Física. 2016, <http://hdl.handle.net/10201/47465>
17. Fontalvo S. Melissa, González E. Laura, Álvarez L. González Catalina, Restrepo O. Adriana. Estudio de la tintura de seda orgánica colombiana con colorantes certificados por la norma GOTS. Rev. Investigaciones Aplicadas Medellín – Colombia, 2014; 8(1): 37-44.



18. González Echavarría Laura, Fontalvo Silva Melissa, Álvarez López Catalina, Restrepo Osorio Adriana. Generalidades de la seda y su proceso de teñido. Rev. Prospectiva Una nueva visión para la ingeniería. 2014; 12(1): 7-14.
19. Rodríguez Ortega Alejandro, Jiménez Pérez Manuel, Muñoz Flores Blanca Margarita, García López María Concepción, Chan Navarro Rodrigo, Lara Cerón Jesús Alfredo, Molina Paredes Areli Abigail, Barrón Yáñez Rosario Melina. Fibroína y sericina de capullos de *Samia Cynthia ricini* Drury, 1773 (Lepidoptera: Saturniidae) y *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae), y tinción intrínseca de larvas con compuestos de estaño. Rev. Entomología mexicana, 2016; 3: 136-141.
20. Cenis Anadón José Luis. La seda como biomaterial en Medicina Regenerativa. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). Rev. Dialnet. 2008; 20: 19-22.
21. Cenis José Luis, Aznar Cervantes Salvador D; Lozano Pérez Antonio Abel, Rojo Marta, Muñoz Juan, Mesenguer Olmo Luis, Arenas Aurelio. Silkworm Gut Fiber of *Bombyx mori* as an Implantable and Biocompatible Light-Diffusing Fiber. Rev. International Journal of Molecular Sciences 2016; 17(7): 1142.
22. Gaviria Arias Duverney, Caballero Méndez Lyda Cenobia. Uso de biomateriales a partir de la fibroína de la seda (*Bombyx mori* L.) Para procesos de medicina regenerativa basada en ingeniería de tejidos. Rev. Médica Risaralda 2015; 21(1): 38-47.
23. Banani Kundu, Rangam Rajkhowa, Subhas C. Kundu, Xungai Wang. Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. Rev. Advanced Drug Delivery Reviews. Elsevier 2013; 65: 457-470.
24. Cárdena Pérez Yesica C; Vera Graziano Ricardo, Muñoz Prieto Efren d. J; Gómez Pachón Edwin Y. Preparation and characterization of scaffold nanofibers by electrospinning, based on chitosan and fibroin from Silkworm (*Bombyx mori*). Rev. Ingeniería y competitividad 2017; 19(1): 134-146.
25. Traian V. Chirila, Shuko Suzuki, Ophélie Delcroix. Enzymatic crosslinking of *Bombyx mori* silk fibroin biomaterials: An investigation of the gel point by dynamic rheology. Rev. Biomaterials and Tissue Technology. 2017; 1(1): 4-4.



26. Ríos Daniel Angel, Álvarez López Catalina, Cruz Riaño Luis Javier, Restrepo Osorio Adriana. Revisión: fibroína de seda y sus potenciales aplicaciones en empaques biodegradables para alimentos. Rev. Prospect 2017; 15(1): 7-15.
27. 38. Wong, Y., Kim, H.J., Vunjak-Novakovic, G., Kaplan, D.L; Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials; Biomaterials 2006; 27(36): 6064-82.
28. Altman G, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J, Lu H, Richmond J, Kaplan DL. Silk-Based Biomaterials in Biomedical Textiles and Fiber-Based Implants. Rev. Advanced Health Materials 2015; doi: [10.1002/adhm.201500002](https://doi.org/10.1002/adhm.201500002)
29. Unger, R.E., Wolf, M., Peters, K., Motta, A., Migliaresi, C., Kirkpatrick, C.J; Growth of human cells on a non-woven silk fibroin net: a potential for use in tissue engineering., Rev. Biomaterials 2004, 25(6): 1069-1075.
30. Inouye, K., Kurokawa, M., Nishikawa, S., Tsukada, M. Use of Bombyx mori silk fibroin as a substratum for cultivation of animal cells. Rev. Biochem Biophys Methods 1998; 37: 159–64.
31. Lara Juárez Diana, García Contreras René, Arenas Arroccena María Concepción. Suturas funcionalizadas con nanomateriales para cirugía oral: revisión sistemática. Rev. Española de Cirugía Oral y Maxilofacial 2017; <https://doi.org/10.1016/j.maxilo.2017.01.001>
32. Caballero Méndez Lyda, Rivera Cano Juliana, Gaviria Arias Duverney. Evaluación de la fibroína de seda como biomaterial de soporte para el crecimiento de células mesenquimales estromales de pulpa dental. Rev. Ciencias Médicas ARS Médica, 2016; 41(1): 1-13.
33. Garcia Fuentes M, Meinel AJ, Hilbe M, Meinel L & Merkle HP. Silk fibroin/hyaluronan scaffolds for human mesenchymal stem cell culture in tissue engineering. Rev. Biomaterials 2009; 30: 5068-5076.
34. Deng J, She R, Huang W, Dong Z, Mo G & Liu B. A silk fibroin/ chitosan scaffold in combination with bone marrow-derived mesenchymal stem cells to repair cartilage defects in the rabbit knee. Rev. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 2013; 24: 2037-2046.



35. Wei Y, Gong K, Zheng Z, Wang A, Ao Q, Gong Y & Zhang X. Chitosan/silk fibroin-based tissue-engineered graft seeded with adipose-derived stem cells enhances nerve regeneration in a rat model. *Rev. Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2011; 22: 1947-1964.
36. Zeng C, Yang Q, Zhu M, Du L, Zhang J, Ma X, Xu B & Wang L. Silk fibroin porous scaffolds for nucleus pulposus tissue engineering. *Rev. Materials Science and Engineering: C* 2014; 37: 232-240.
37. Fabián MM, Rodríguez BC & PérezII MAÁ. Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Revista Odontológica Mexicana* 2010; 14: 15-20.
38. Flores-Figueroa E, Montesinos JJ & Mayani H. Células troncales mesenquimales: historia, biología y aplicación clínica. *Revista de investigación clínica* 2016; 58: 498-511.
39. Matalon S, Kozlovsky A, Kfir A, Levartovsky S, Mazor Y, Slutzky H. The effect of commonly used sutures on inflammation inducing pathogens an in vitro study. *Rev. J Craniomaxillofac Surg.* 2013; 41: 593–7.
40. Selvig KA, Biagiotti GR, Leknes KN, Wikesjö UM. Oral tissue reactions to suture materials. *Rev. Int J Periodontics Restorative Dent.* 1998; 18: 474–87.
41. Chen X, Hou D, Tang X, Wang L. Quantitative physical and handling characteristics of novel antibacterial braided silk suture materials. *Rev. J Biomed Mater Mech Behav.* 2015; 50: 160–70.
42. Chu CC, Williams DF. Effects of physical configuration and chemicals structure of suture materials on bacterial adhesion. A possible link to wound infection. *Rev. Am J Surg.* 1984;147: 197–204.
43. Hranjec T, Swenson BR, Sawyer RG. Surgical site infection prevention: How we do it. *Rev. Surg Infect (Larchmt).* 2010; 11: 289.
44. Masini BD, Stinner DJ, Waterman SM, Wenke JC. Bacterial adherence to suture materials. *Rev. J Surg Educ.* 2011; 68: 101.
45. Parirokh M, Asgary S, Eghbal MJ, Stowe S, Kakoei S. A scanning electron microscope study of plaque accumulation on silk and PVDF suture materials in oral mucosa. *Rev. Int Endod J.* 2004; 37: 776–81.



46. Serrano C, García L, Fernandez J, Barbeck M, Ghanaati S, Unger R, et al. Nanostructured medical sutures with antibacterial properties. *Rev. Biomaterials*. 2015; 52: 291–300.
47. Warnke P, Becker S, Podschun R, Sivananthan S, Springer I, Russo P, et al. The battle against multi-resistant strains: renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *Rev. J Craniomaxillofac Surg*. 2009; 37: 392–7.
48. Flynn T, Shanti R, Levi M, Adamo A, Kraut R, Trieger N. Severe odontogenic infections, part 1: Prospective report. *Rev. J Oral Maxillofac Surg*. 2006; 64: 1093–103.
49. Edmiston C, Daoud F, Leaper D. Meta-analysis of prevention of surgical site infections following incision closure with triclosan-coated sutures: Robustness to new evidence. *Rev. Surgery*. 2014; 15: 165–81.
50. Bai L, Zhu L, Min S, Liu L, Cai Y, Yao J. Surface modification and properties of Bombyx mori silk fibroin films by antimicrobial peptide. *Rev. Appl Surf Sci*. 2008; 2064: 2988–95.
51. Arai T, Freddi G, Colonna GM, Scotti E, Boschi A, Murakami R, et al. Absorption of metal cations by modified B. mori silk and preparation of fabrics with antimicrobial activity. *Rev. J Appl Polym Sci*. 2001; 80: 297–303.
52. Davarpanah S, Mahmoodi NM, Arami M, Bahrami H, Mazaheri F. Environmentally friendly surface modification of silk fiber: Chitosan grafting and dyeing. *Rev. Appl Surf Sci*. 2009; 205: 4171–6.
53. Haeyong Kweon, Hyun Ha, In Chul Um, Young Hwan Park. Physical Properties of Silk Fibroin/Chitosan Blend Films. Department of Natural Fiber Sciences, Seoul National University, Suwon. *Rev. Journal of Applied Polymer Science*, 2001; 80: 441-744.
54. Shuang Tong, MD, Da-peng Xu, MS, Zi-mei Liu, MS, Yang Du, MD, Xu-kai Wang, DDS, PhD. Synthesis of the New-Type Vascular Endothelial Growth Factor -Silk Fibroin – Chitosan Three – Dimensional Scaffolds for Bone Tissue Engineering and *In Vitro* Evaluation. *Rev. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008; 105(32): doi: 10.1073/pnas.0800069105.



55. Meng M, He H, Xiao J, Zhao P, Xie J, Lu Z. Controllable in situ synthesis of silver nanoparticles on multilayered film-coated silk fibers for antibacterial application. *Rev. J Colloid Interface Sci.* 2016; 461: 369–75.
56. Ahmad Z, Vargas-Reus MA, Bakhshi R, Ryan F, Ren GG, Oktar F, et al. Antimicrobial properties of electrically formed elastomeric polyurethane-copper oxide nanocomposites for medical and dental applications. *Rev. Methods Enzymol.* 2012; 509: 87–99.
57. Lu Z, Xiao J, Wang Y, Meng M. In situ synthesis of silver nanoparticles uniformly distributed on polydopamine-coated silk fibers for antibacterial application. *Rev. J Colloid Interface Sci.* 2015; 452: 8–14.
58. Li G, Liu H, Zhao H, Gao Y, Wang J, Jiang H, et al. Chemical assembly of TiO₂ and TiO₂@Ag nanoparticles on silk fiber to produce multifunctional fabrics. *Rev. J Colloid Interface Sci.* 2011; 358: 307–15.
59. Lu Z, Mao C, Meng M, Liu S, Tian Y, Yu L, et al. Fabrication of CeO₂ nanoparticle-modified silk for UV protection and antibacterial applications. *Rev. J Colloid Interface Sci.* 2014; 435: 8–14.
60. Thierry S, Wacharanad S, Potiyaraj P. Tuning of the antimicrobial activity of surgical sutures coated with silver nanoparticles. *Rev. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2011; 380: 25–8.
61. Ho CH, Odermatt EK, Berndt I, Tiller JC. Long-term active antimicrobial coatings for surgical sutures based on silver nanoparticles and hyperbranched polylysine. *Rev. J Biomater Sci Polym Ed.* 2013; 24:1589–600.



GLOSARIO

7-ADD: 7-aminoactinomicina

cDNA: ADN copia

CVD: deposición química de vapor

DFSCs: células madre del folículo dental

DPSCs: células madre de la pulpa dental

GO: óxido de grafeno

HA: hidroxiapatita

HFIP: hexafluoroisopropanol

hMSC: células madre mesenquimales humanas

hPDL: ligamento periodontal humano

hPDLSCs: células madre humanas de ligamento periodontal

PDL: ligamento periodontal

PE: ficoeritrina

PEG: polietilenglicol

PEI: polietilenimina

PLA: ácido poliláctico

PVA: ácido polivinílico

rGO: óxido de grafeno reducido

rSF: fibroína de seda tratada con ácido ascórbico

SF: fibroína de seda

TNF: factor de necrosis tumoral