

DESARROLLO DE UN MODELO COMPUTACIONAL PARA EL DISEÑO DE BIOMATERIALES

ING. GUSTAVO ANTONIO OLIVERA BOTELLO

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
FACULTAD DE MEDICINA

BOGOTÁ D.C.

2006

DESARROLLO DE UN MODELO COMPUTACIONAL PARA EL DISEÑO DE BIOMATERIALES

ING. GUSTAVO ANTONIO OLIVERA BOTELLO

CÓDIGO 200227151

Proyecto de Grado para optar al título de
MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

Asesor

JORGE HUMBERTO TORRES, PH.D.

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE INGENIERÍA

UNIVERSIDAD DEL ROSARIO
FACULTAD DE MEDICINA

BOGOTÁ D.C.

2006

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	8
1. ALGUNAS NECESIDADES CLÍNICAS EXISTENTES	12
1.1. ESTENOSIS BENIGNA DE VÍAS BILIARES / TAPONAMIENTO DEL STENT	12
1.2. PRÓTESIS ORTOPÉDICAS / TIEMPO DE OSTEOINTEGRACIÓN	14
1.3. VÁLVULAS CARDIACAS MECÁNICAS / TROMBOEMBOLISMOS	16
2. ESTRATEGIA GENERAL DE DISEÑO	18
2.1. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE BIOMATERIALES	19
2.2. REDES NEURONALES ARTIFICIALES	20
2.3. ALGORITMOS GENÉTICOS	23
3. IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO	26
3.1. ESPECTROS INFRARROJOS	27
3.2. MODELO COMPUTACIONAL	28
3.3. PROPIEDADES	29
4. RESULTADOS	31
5. LINEAMIENTOS GENERALES PARA EL MODELAMIENTO DE LA BIOCMPATIBILIDAD	33
5.1. INFLAMACIÓN	38

5.2. ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO	40
5.3. TROMBOGÉNESIS	41
5.4. HIPERSENSIBILIDAD	43
5.5. TOXICIDAD	44
5.6. FIBROSIS	45
6. PROPUESTA DE UNA PRUEBA <i>IN VITRO</i> PARA LA EVALUACIÓN PARCIAL DE LA BIOCMPATIBILIDAD DE UN MATERIAL	47
6.1. MATERIALES	47
6.2. MÉTODOS	48
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	53
REFERENCIAS	55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lista de materiales utilizados	26
Tabla 2. Base de Datos utilizada	30
Tabla 3. Resultados Obtenidos	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Entrenamiento de una red neuronal por propagación inversa	22
Figura 2. Implementación de un algoritmo genético	25
Figura 3. Ejemplo de un espectro ATR-FTIR	27
Figura 4. Representación esquemática de un nodo	28
Figura 5. Representación esquemática de la Reacción ante un Cuerpo Extraño	34
Figura 6. Representación esquemática de los fenómenos de Inflamación y Activación del Complemento	39
Figura 7. Representación esquemática de la Trombogénesis	42
Figura 8. Síntesis del protocolo experimental propuesto para la evaluación de la biocompatibilidad de un biomaterial	52

INTRODUCCIÓN

La relación moderna entre la medicina y la ingeniería debe ser interpretada en términos de un estrecho vínculo de cooperación, a través del cual cada una de estas áreas del conocimiento tiene la posibilidad de enriquecer a la otra, aportando elementos muy valiosos para el desarrollo de la ciencia y la tecnología. A lo largo de la historia, el estudio de la naturaleza (y del cuerpo humano como parte de ella) ha sido fuente de inspiración para la ingeniería, debido a la alta eficiencia, precisión y estabilidad de todos los sistemas que la conforman. De otro lado, en aquellas ocasiones en las que, por alguna razón, esos mismos sistemas no funcionan adecuadamente, ha sido posible implementar soluciones desarrolladas gracias al uso de herramientas propias de la ingeniería. Fue precisamente así como hace algo más de medio siglo surgió formalmente un área de trabajo consagrada al estudio de los biomateriales.

Los buenos resultados son evidentes. Hoy en día, un paciente que corre el riesgo de desarrollar una insuficiencia cardiaca crónica debido a una estenosis valvular puede prácticamente recuperar su vida normal gracias a la implantación de una válvula cardiaca artificial. Así mismo, un paciente que ve disminuir progresivamente su motilidad, debido al intenso dolor producido en su cadera por una artritis severa, puede rápidamente recuperar sus funciones motoras normales gracias a la implantación de una prótesis metálica.

Sin embargo, los resultados podrían ser aún mejores. Es bien sabido, por ejemplo, que todas las personas que hayan sido sometidas a la implantación de una válvula cardiaca mecánica deben seguir de forma indefinida una estricta terapia a base de anticoagulantes con el fin de prevenir tromboembolismos [1]. Desafortunadamente, este tratamiento ha sido asociado a complicaciones hemorrágicas con una frecuencia que puede variar entre el 1% y el 3% [2].

De igual forma, se sabe que el poli cloruro de vinilo (PVC) es el biomaterial, en contacto con sangre, más usado alrededor del mundo [3]. El PVC que es utilizado, por ejemplo, en las máquinas corazón-pulmón contiene una gran cantidad de plastificante, normalmente di-2-etil-hexil-ftalato (DEHP), el cual puede llegar a representar un 80% en peso del material [4]. Recientemente se ha demostrado que al viajar a través de esos circuitos de circulación extracorpórea, la sangre en realidad no se encuentra con el PVC, sino principalmente con el DEHP que ha migrado hacia la superficie [5]. El problema es que existe una cantidad considerable de estudios que sugieren que la exposición al DEHP puede llegar a tener efectos negativos sobre el hígado [6] y el sistema reproductivo [7]. Desde luego, la preocupación es mucho más grande en casos donde el tiempo de contacto con la sangre es mayor, como en el caso de las bolsas para transfusión [8,9].

Éstos, y muchos otros problemas se presentan básicamente porque la mayor parte de materiales utilizados para la producción de dispositivos implantables no fueron desarrollados específicamente para este fin. Como lo afirma Buddy Ratner, miembro del Departamento de Bioingeniería de la Universidad de Washington, "... no fueron desarrollados para ser utilizados en este campo. Cada uno de ellos se convirtió en biomaterial cuando alguien dijo: 'implantémoslo y veamos qué pasa'..." [10].

Robert Langer, miembro de la División de Ingeniería Biológica del Instituto de Tecnología de Massachusetts (MIT), va un poco más allá al afirmar que "hasta la década de los 70, los médicos trataban de adaptar materiales disponibles, que habían sido diseñados para otro tipo de aplicaciones. Por ejemplo, un polímero llamado poli-éter-uretano, utilizado en el desarrollo preliminar de corazones artificiales, era originalmente usado en la producción de fajas para mujeres. (...) de los materiales utilizados para producir implantes de seno, uno era originalmente un lubricante y el otro era usado como relleno para colchones. (...) ellos utilizaban cualquier tipo de material que se pareciera de alguna manera al tejido que estaban tratando de reemplazar..." [11].

La falta de estrategias orientadas al diseño de biomateriales se ve reflejada, por ejemplo, en el caso de los materiales poliméricos: a pesar del vertiginoso desarrollo de esta industria en los últimos cincuenta años, y de la amplia gama de posibilidades ofrecidas por la química macromolecular, su impacto en el desarrollo de dispositivos para uso médico pareciera estar limitado a un reducido número de materiales tradicionalmente utilizados en otras aplicaciones. A mediados de la década de los 90, casi la totalidad de la producción mundial de polímeros para uso clínico podía resumirse en tan solo diez materiales: PVC (25%), LDPE (18%), HDPE (15%), PP (14%), PS (13%), PC – PET – PMMA (8%), silicona – PU (5%) [12].

La necesidad de diseñar materiales ha dado origen a una gran cantidad de trabajos de investigación en diferentes áreas tecnológicas. Gerbrand Ceder, miembro del Departamento de Ingeniería y Ciencia de Materiales del MIT, dirige un grupo de investigación cuyo principal objetivo es diseñar nuevos materiales para el desarrollo de baterías recargables que sean mucho más eficientes que las existentes. Para hacerlo, utilizan una metodología conocida como 'first-principle calculations', la cual busca combinar modelamiento computacional con algunas teorías que tienen su origen en la física del estado sólido, así como en la mecánica cuántica y estadística. El trabajo del grupo ha sido descrito de la siguiente manera: "...el sueño es simple: reemplazar la vieja práctica de encontrar nuevas sustancias mediante ensayo y error, por cálculos basados en las leyes de la mecánica cuántica que predigan las propiedades de los materiales antes de producirlos..." [13].

En el caso de los biomateriales existe un elemento adicional que hace que la idea del diseño parezca, al mismo tiempo, mucho más complicada e interesante. En este caso en particular existe un organismo vivo que va a recibir el producto final del diseño, generando una respuesta que hasta ahora no es posible pronosticar. La intensidad con la cual se presenta esa reacción es un parámetro muy importante en el estudio de los biomateriales, razón por la cual se ha intentado describir a través de una propiedad llamada *biocompatibilidad*.

En el año 2004, Buddy Ratner escribió: "En general, los biomateriales utilizados hoy en día no controlan la respuesta biológica que inducen. Esta respuesta es estocástica y no planeada. Claramente, vale la pena considerar las diferentes estrategias propuestas para controlar con precisión esta respuesta interfacial. Es probable que la nueva generación de biomateriales cumpla con esta visión" [14]. En el mismo año, Robert Langer escribió: "El trabajo actual en esta área busca un uso más eficiente de los biomateriales, a través de la elucidación de los principios básicos de diseño que puedan determinar el éxito o el fracaso de su utilización" [15].

Así pues, este proyecto fue realizado buscando analizar las principales características fisicoquímicas de los biomateriales, así como las respuestas biológicas que pueden inducir al ser implantados, con el fin de desarrollar un modelo computacional orientado al diseño.

En el capítulo 1 se analizarán algunos problemas clínicos reales que podrían ser solucionados mediante el diseño sistemático de biomateriales; en el capítulo 2 se presentarán las bases conceptuales que llevaron al desarrollo del modelo, mientras que en el capítulo 3 se describirá su implementación, para la cual se utilizó una base de datos bastante simple que fue obtenida mediante la compilación, y posterior análisis, de una gran cantidad de información reportada en la literatura. En el capítulo 4 se presentarán los resultados obtenidos a partir del modelo descrito en los dos capítulos anteriores. Finalmente, en los capítulos 5 y 6 se expondrán los fundamentos teóricos y experimentales que permitirían la utilización de nuestro modelo en el estudio y análisis del fenómeno de la biocompatibilidad.

1. ALGUNAS NECESIDADES CLÍNICAS EXISTENTES

1.1. ESTENOSIS BENIGNA DE VÍAS BILIARES / TAPONAMIENTO DEL STENT

La estenosis de vías biliares es una patología ampliamente reconocida como de origen iatrogénico, y está normalmente asociada a procedimientos quirúrgicos hepatobiliares como, por ejemplo, el trasplante de hígado y la colecistectomía. Su tasa de incidencia varía ampliamente entre los diferentes estudios realizados alrededor del mundo. Algunos autores afirman, por ejemplo, que las complicaciones asociadas a las vías biliares pueden afectar hasta un tercio de los pacientes que reciben trasplante de hígado [16]. Otros autores hablan de un caso de complicaciones biliares por cada 8 receptores de trasplante [17]. De otra parte, un estudio clínico realizado en Lille (Francia) [18], en el cual fueron evaluados un total de 168 receptores adultos de trasplante de hígado, reveló un total de 30 casos de estenosis en vías biliares, lo cual corresponde a una tasa de incidencia del 18%.

El trasplante de hígado sigue siendo la única esperanza de vida para aquellos pacientes que sufren de una insuficiencia hepática aguda. Según el Registro Científico de Receptores de Trasplantes de Estados Unidos [19], en un periodo de 12 meses (Julio 2003 – Junio 2004) se realizaron se realizaron en ese país cerca de 6,000 trasplantes de hígado. En nuestro país, según datos publicados por la Presidencia de la República [20], se reportaron 84 procedimientos de trasplante hepático durante el año 2003, lo que equivale a una tasa de 1,9 por millón de habitantes. En otros países latinoamericanos se presentan tasas más altas, como es el caso de Argentina y Brasil, donde se manejan cifras de 3,7 y 2,9 respectivamente. Sin embargo, en el caso de Colombia se espera que el número de intervenciones aumente ya que a partir de Enero del año 2005 el trasplante de hígado fue incluido dentro del Plan Obligatorio de Salud (POS).

La colecistectomía, de su parte, es un procedimiento mucho más común y menos invasivo que el trasplante de hígado. Se estima que en los países desarrollados se utiliza actualmente una técnica laparoscópica en el 80% de los casos. Sin embargo, la realidad en los países en vía de desarrollo es muy diferente. La Encuesta Latinoamericana de Cirugía Laparoscópica del año 2002, realizada por la Federación Latinoamericana de Cirugía (FELAC), demostró que la frecuencia del procedimiento laparoscópico puede ser tan baja como el 14% (Colombia) de todas las colecistectomías [21]. Obviamente la cirugía abierta es mucho más invasiva y existe un mayor riesgo de inducir indirectamente la estenosis de vías biliares, ya que la devascularización de algunos tejidos aledaños se hace inevitable.

En la mayoría de los casos, la extirpación de la vesícula biliar es indicada cuando se diagnostica la presencia de cálculos biliares (colecistitis) y/o a la inflamación (colecistitis), algunas veces de origen infeccioso, de este pequeño órgano cuya principal función es la de almacenar y acondicionar la bilis producida por el hígado.

En el año de 1992, cuando el Instituto Nacional de Salud (NIH) de los Estados Unidos aprobó el procedimiento de colecistectomía laparoscópica en el tratamiento clínico de la colecistitis, se afirmaba que aproximadamente entre el 10% y el 15% de la población adulta de ese país, lo que equivalía en ese momento a unas 20 millones de personas, tenían cálculos biliares. Así mismo, se estimaba que el número de casos nuevos diagnosticados ascendía a 1 millón por año, y que el número de colecistectomías realizadas en el mismo periodo de tiempo era del orden de 600,000 [22].

La enfermedad litiásica de la vesícula biliar constituye una patología quirúrgica de alta frecuencia en nuestro país, que origina un alto número de intervenciones quirúrgicas tanto en pacientes de cirugía electiva como de urgencia. En la mayoría de nuestros hospitales se constituye como una de las tres primeras causas de patología quirúrgica [23].

Indistintamente de su etiología, la estenosis de vías biliares representa una condición fisiopatológicamente crítica que exige intervención médica oportuna para prevenir posteriores complicaciones. La disminución del lumen biliar puede llegar a obstaculizar por completo el flujo de bilis que, en condiciones normales, debería llegar hasta el duodeno. Si esto ocurre, la bilis queda atrapada por completo en el hígado generando rápidamente un cuadro de ictericia, seguido de posible daño hepático (cirrosis), colangitis y litiasis.

La primera opción de tratamiento frente a una estenosis obstructiva consiste en la dilatación con balón neumático, seguida de la inserción de un stent que se utiliza para garantizar un flujo biliar normal, y para evitar que se presente una reestenosis. Sin embargo, en la mayoría de los casos el stent no puede permanecer implantado por más de 10 o 15 semanas ya que, por alguna razón que aún no ha sido plenamente establecida, la presencia de este dispositivo artificial induce la deposición de barro biliar sobre su superficie, el cual puede acumularse hasta el punto de causar la obstrucción total del stent.

En dicho caso, el stent debe ser retirado y diferentes análisis, incluido un colangiograma, deben ser realizados para evaluar la condición del flujo biliar, y así poder decidir si un nuevo stent debe ser implantado o no. Si la reestenosis persiste, sucesivas implantaciones de stent se hacen necesarias, lo cual afecta de forma considerable la calidad de vida del paciente y genera altos costos asociados al tratamiento. Así pues, el desarrollo de un dispositivo implantable que garantice la restitución de un flujo biliar normal, sin inducir ningún efecto secundario negativo, es de gran interés clínico.

1.2. PRÓTESIS ORTOPÉDICAS / TIEMPO DE OSTEOINTEGRACIÓN

La osteointegración de un implante ortopédico es un proceso considerablemente lento [24] que exige la inmovilización parcial y temporal de los pacientes, lo cual genera altos costos no solo debido al tratamiento mismo sino a las incapacidades laborales asociadas.

Diferentes estrategias han sido propuestas para optimizar el proceso de osteointegración de un biomaterial: desde el recubrimiento de los implantes con sustancias inductoras de osteogénesis como, por ejemplo, los fosfatos de calcio, y más específicamente la hidroxiapatita [25], hasta la estimulación directa de osteoblastos mediante el uso de pulsos electromagnéticos. Dentro de éstas últimas técnicas, originalmente desarrolladas para el tratamiento de fracturas, se destacan la estimulación mediante campos electromagnéticos pulsados (PEMFs) y mediante ultrasonidos pulsados de baja intensidad (LIPUS) [26].

La artroplastia total de articulaciones mayores, como por ejemplo de la cadera o de la rodilla, representa una de las más importantes aplicaciones clínicas de los biomateriales. Estos procedimientos quirúrgicos son utilizados para normalizar las funciones motoras de pacientes que sufren graves trastornos patológicos como la artritis severa.

Desafortunadamente, los resultados no siempre son los esperados. Se calcula que en 1999, solamente en Estados Unidos, fue necesario realizar más de 25,000 cirugías de revisión de reemplazos de rodilla, y más de 30,000 cirugías de revisión de reemplazos totales de cadera [27].

El proceso de optimización de las prótesis utilizadas ha llevado al uso de diferentes tipos de materiales como metales, polímeros, cerámicas y materiales compuestos. En términos generales, las principales complicaciones, a mediano y largo plazo, asociadas a este tipo de procedimientos son: i) la dislocación y/o aflojamiento aséptico de la prótesis, ii) la trombosis venosa profunda, iii) la infección crónica en el sitio del implante, y iv) la formación de tejido óseo heterotópico, es decir, aquel tejido "excesivo" que puede desarrollarse fuera de su sitio normal y que puede limitar algunos movimientos de la articulación.

En algunos casos, con el objetivo de optimizar la sujeción del vástago de la prótesis al hueso, se utiliza un cemento acrílico, induciendo el proceso de fraguado *in situ*. Sin embargo, es bien sabido

que los cementos envejecen, reordenan sus moléculas, cambian su orientación y se cristalizan, perdiendo de esta manera sus propiedades físicas, volviéndose más frágiles y cuarteándose. De esta manera se aproximan poco a poco al desenlace final, que es el temido aflojamiento aséptico [28].

Adicionalmente, se sabe que las características químicas de los cementos acrílicos parecen intervenir de manera desfavorable sobre los mecanismos fisiológicos de lucha contra la infección. Es más, el uso de polimetilmetacrilato (PMMA) como agente de fijación ha sido ampliamente cuestionado debido a la toxicidad del monómero. En efecto, éste es letal a dosis de 125 mg/L de volumen sanguíneo, si bien es cierto que el organismo posee una cierta capacidad de metabolizar el monómero residual en forma de CO₂. En el pasado algunos accidentes cardiovasculares observados durante el postoperatorio de reemplazos protésicos fueron atribuidos a este fenómeno [29].

Estos inconvenientes de orden toxicológico, sumados al hecho que, en comparación con el tejido óseo compacto, el PMMA fraguado es mecánicamente más débil (25% en tracción, 50% en compresión, 50% en cizalladura, y 25% en flexión), confirman la necesidad de seguir trabajando en el desarrollo de sistemas mas eficientes para la fijación y la integración de los implantes. El primer paso debería ser el desarrollo de prótesis que sean biocompatibles y una mejor capacidad de inducir osteogénesis sobre la superficie del implante.

1.3. VÁLVULAS CARDIACAS MECÁNICAS / TROMBOEMBOLISMOS

El reemplazo quirúrgico de válvulas cardíacas se hace imperativo cuando los tejidos que las conforman sufren daños irreversibles que pueden llevar a una estenosis valvular, o bien a una insuficiencia valvular, afectando en cualquiera de los casos el funcionamiento normal del corazón. Estos daños pueden tener su origen en 4 grandes grupos de patologías cardíacas, a saber: (i) las

valvulopatías degenerativas asociadas principalmente a la enfermedad reumática cardiaca, (ii) las endocarditis bacterianas, (iii) las calcificaciones valvulares, y (iv) las malformaciones congénitas.

Actualmente se estima que cerca de 225,000 personas alrededor del mundo se someten cada año a un reemplazo de válvulas cardiacas [30], de las cuales aproximadamente 4,500 (i.e.~2%) sufren complicaciones hemorrágicas asociadas al uso continuado de anticoagulantes como la Warfarina (Coumadin®) [31].

En Estados Unidos, el costo de una válvula cardiaca artificial es de aproximadamente 4,000 dólares, y la cirugía para implantarla puede llegar a costar 60,000 dólares. Se calcula que, en ese país, un 10% de los casos las válvulas fallan y tienen que ser reemplazadas quirúrgicamente, aumentando significativamente los costos para el sistema de salud [32].

Las válvulas mecánicas más sofisticadas utilizadas en nuestros días son hechas de grafito y están recubiertas por una fina capa de carbono pirolítico con el objetivo de aumentar su resistencia al desgaste y su hemocompatibilidad. Se estima que, en condiciones ideales, la resistencia mecánica de una de estas válvulas puede garantizar una vida útil superior a la esperanza de vida promedio de los pacientes que las utilizan. Sin embargo, si se presentan problemas asociados a la formación de coágulos sanguíneos es posible que la válvula tenga que ser reemplazada prematuramente.

En cuanto a Colombia, se cree que las enfermedades valvulares son responsables del 30% de las cirugías cardíacas realizadas cada año [31]. Esta alta proporción, sumada a los riesgos asociados al uso de las válvulas existentes, nos hacen reflexionar sobre el impacto clínico que tendría el desarrollo de un dispositivo implantable que tuviera un mejor desempeño biológico, y que sirviera para reestablecer de manera segura las funciones cardiacas de un paciente.

2. ESTRATEGIA GENERAL DE DISEÑO

Para poder ser utilizado en el desarrollo de un dispositivo implantable, un material debe poseer ciertas propiedades físicas y mecánicas que le permitan satisfacer un conjunto de requerimientos funcionales específicos. Además de esto, el material debe ser biocompatible, es decir, una vez implantado debe "ser capaz de desempeñar una función determinada induciendo una respuesta apropiada de parte del organismo receptor" [33].

La posibilidad de resolver un problema clínico específico mediante el uso de un dispositivo implantable exige la búsqueda de materiales que cumplan con las condiciones antes mencionadas. Para hacerlo, se utilizan con frecuencia metodologías netamente experimentales que siguen una estrategia del tipo ensayo y error. Como lo afirma Gregory Olson, miembro del Departamento de Ingeniería y Ciencia de Materiales de la Universidad Northwestern, "...durante milenios, los materiales han sido diseñados a través de la correlación empírica entre los procesos de producción y las propiedades obtenidas." [34]. Esta alternativa, además de requerir inversiones considerables de esfuerzo, tiempo y dinero, depende ampliamente del azar para llegar a ser exitosa. La utilización de herramientas propias del modelamiento computacional permitiría simular, a bajo costo y de forma rápida, el efecto que sobre el desempeño final de un dispositivo implantable tendría la modificación de alguna de las características fisicoquímicas de los materiales que lo componen.

El modelo computacional que nosotros desarrollamos está básicamente constituido por dos elementos: una red neuronal artificial y un algoritmo genético. Con el primero se pretende encontrar una relación determinística entre las características fisicoquímicas de un material y las propiedades que, como la biocompatibilidad, pueden definir el éxito o el fracaso de su utilización in vivo. El segundo, es un algoritmo de optimización que permite explorar de forma sistemática un

vasto universo de posibilidades en busca del material que mejor se adapte a unas necesidades clínicas previamente definidas.

2.1. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE BIOMATERIALES

Debido fundamentalmente a la importancia que tiene la interacción con el organismo receptor, el análisis fisicoquímico de los biomateriales se centra en aquellas características de la superficie que pueden llegar a definir la respuesta biológica después de su implantación. Entre ellas, las más frecuentemente estudiadas son: la composición química, la energía superficial y la rugosidad [1,35].

Es bien sabido que la composición química superficial de un biomaterial es bastante sensible a los procesos de transformación y esterilización [12]. Por tal razón es fundamental siempre realizar el análisis químico utilizando muestras que estén listas para ser implantadas. Dicho análisis puede realizarse a través de estudios espectroscópicos asociados a técnicas de microscopía electrónica como, por ejemplo, la microscopía de barrido a transmisión de rayos X (STXM) y la microscopía a emisión de fotoelectrones (PEEM). Otras alternativas comúnmente utilizadas son: la espectroscopia de electrones Auger (AES), la espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS), la espectroscopia de masas de iones secundarios (SIMS) y la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflexión total atenuada (ATR-FTIR) [35].

En términos generales la espectroscopia infrarroja (IR) consiste en la determinación de la longitud de onda y la intensidad de absorción obtenidas al irradiar un cuerpo dentro de un intervalo preciso del espectro electromagnético.. El segmento que normalmente es utilizado (2.5 - 50 μm ; 4000 - 200 cm^{-1}) posee la capacidad de excitar las vibraciones moleculares hasta llevarlas a niveles energéticos más altos. Las longitudes de onda de las bandas de absorción infrarrojas son

características de ciertos tipos de enlaces químicos, razón por la cual permiten la identificación de una gran cantidad compuestos químicos.

La espectroscopia por transformada de Fourier es una técnica en la cual los espectros son obtenidos con base a un único pulso de radiación electromagnética, a diferencia de la espectroscopia convencional en la cual la energía de la radiación es variada dentro de un rango determinado. Como resultado se obtiene una señal que resulta ser la combinación de todas las posibles frecuencias, la cual es analizada y procesada por medio de la transformada de Fourier hasta obtener las frecuencias de resonancia, dando origen al mismo tipo de espectro que se obtendría por espectroscopia convencional, pero en mucho menor tiempo.

De otra parte, desde el punto de vista físico y morfológico, es posible analizar los perfiles de topografía y rugosidad de un biomaterial mediante el uso de técnicas como la microscopía de fuerza atómica (AFM) y la microscopía interferencial. Así mismo, la determinación de ángulos de contacto proporciona información valiosa sobre el carácter hidrofóbico/hidrofílico de la superficie, permitiendo así el cálculo de la energía libre superficial.

Es un hecho que gracias a todas estas técnicas, hoy en día es posible caracterizar de forma bastante precisa la superficie de un biomaterial. Sin embargo, como lo afirman científicos del Instituto Leibniz de Investigación en Polímeros, con sede en Dresden (Alemania), "...hace falta una correlación precisa entre estos parámetros y la compleja respuesta biológica que el material puede llegar inducir in vivo..." [12]. Ese es precisamente nuestro principal interés.

2.2. REDES NEURONALES ARTIFICIALES

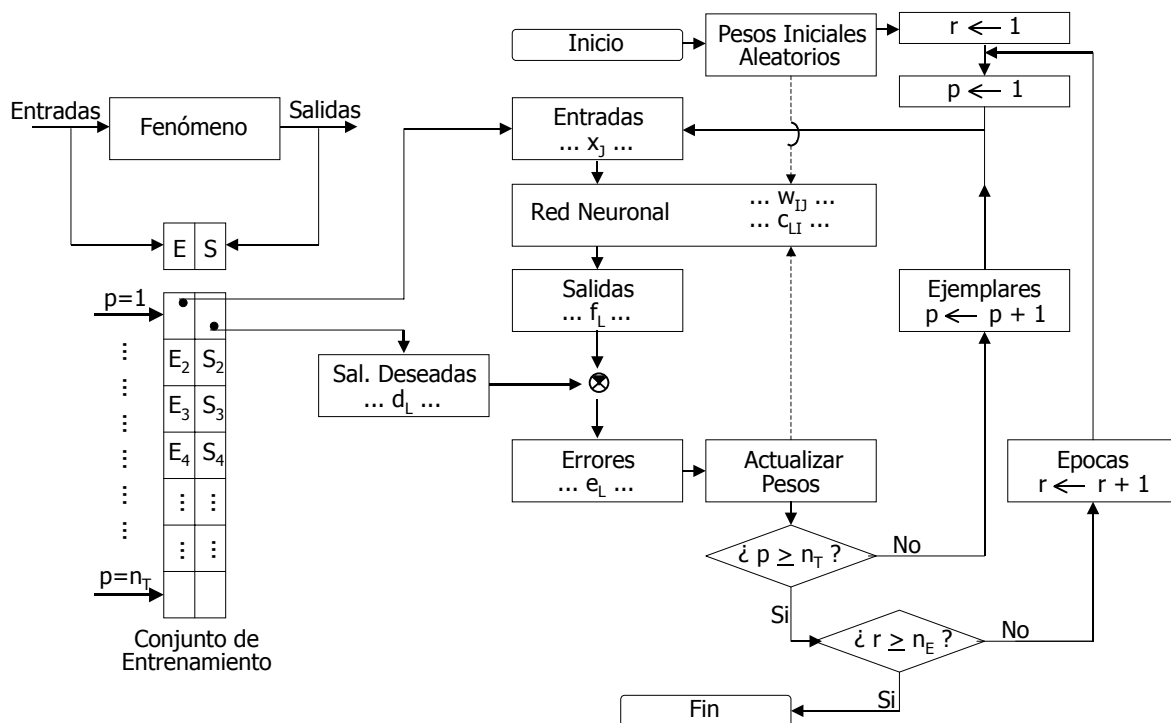
El principal objetivo de la computación neuronal es emular los principios de la inteligencia natural para crear sistemas artificiales capaces de tomar decisiones, realizar clasificaciones y/o establecer

relaciones entre las diferentes variables que definen un sistema. Las redes neuronales artificiales hacen parte de un nuevo conjunto de herramientas conocidas popularmente como 'matemáticas de la complejidad' y técnicamente como 'teoría de los sistemas dinámicos', 'dinámica sistémica', 'dinámica compleja' o 'dinámica no-lineal'. Dichas herramientas surgieron como una respuesta a la necesidad de diseñar modelos capaces de soportar la relación no lineal entre variables y la alta complejidad propias de los fenómenos naturales.

El cambio decisivo que a lo largo de las últimas tres décadas estimuló su desarrollo fue el reconocimiento de que la naturaleza, como lo señala el matemático británico Ian Stewart, es "inexorablemente no-lineal". "Al igual que el mundo era una máquina de relojería en el siglo XVIII, era un mundo lineal en el siglo XIX y la mayor parte del siglo XX" [36].

Una red neuronal artificial es un sistema dinámico de procesamiento de datos, el cual tiene la capacidad de recibir, transformar y entregar información de acuerdo a un conjunto de parámetros que definen la *arquitectura* de la red. Algunos de esos parámetros son modificados sistemáticamente a través de un procedimiento iterativo conocido como *entrenamiento* (figura 1), a través del cual se pretende que la red encuentre una correlación entre dos conjuntos de variables conocidos comúnmente como *variables de entrada* y *variables de salida*.

Durante la fase de *entrenamiento*, la red busca esa correlación a través del análisis de una base de datos que contiene información representativa sobre los dos grupos de variables. La *arquitectura* de la red evoluciona adaptativamente buscando minimizar el error obtenido al intentar predecir valores reales de las variables de salida. Posteriormente se implementa una segunda fase, conocida como *validación*, en la cual se utiliza una segunda base de datos, hasta ese momento desconocida para la red, con el fin de evaluar la calidad de la correlación obtenida.



N1	Número de nodos en la capa 1
N2	Número de nodos en la capa 2
N3	Número de nodos en la capa 3
$x = [x_1, x_2, \dots, x_j, \dots, x_{N1}]$	Vector de entradas a la capa 1
$h = [h_1, h_2, \dots, h_i, \dots, h_{N2}]$	Vector de salidas de la capa 2
$f = [f_1, f_2, \dots, f_l, \dots, f_{N3}]$	Vector de salidas de la capa 3
$w = (w_{ij})_{N1 \times N2}$	Matriz de pesos de conexión entre los nodos de las capas 1 y 2
$c = (c_{li})_{N2 \times N3}$	Matriz de pesos de conexión entre los nodos de las capas 2 y 3
E_p ($0 < p < n_T$)	Un vector de entradas perteneciente al conjunto de entrenamiento
S_p ($0 < p < n_T$)	Un vector de salidas perteneciente al conjunto de entrenamiento
$d = [d_1, d_2, \dots, d_l, \dots, d_{N3}]$	Vector de valores deseados
$e = [e_1, e_2, \dots, e_l, \dots, e_{N3}]$	Vector de errores obtenidos
E	Error cuadrático obtenido
p	Variable que identifica los elementos del conjunto de entrenamiento
n_T	Número de ejemplares que forman el conjunto de entrenamiento
r	Variable que cuantifica el número de épocas
n_E	Número máximo de épocas
b	Parámetro que define el rango donde se ubican los pesos iniciales

Figura 1. Entrenamiento de una red neuronal por propagación inversa

Así pues, nosotros hemos desarrollado un modelo computacional basado en redes neuronales artificiales, el cual esperamos llegará a correlacionar de forma adecuada dos grupos de variables: de un lado, las que representan las características fisicoquímicas de un material, y del otro, las que describen la respuesta inducida una vez el material ha sido implantado en el cuerpo humano.

Para hacerlo, ha sido necesario contar con una base de datos, obtenida a partir del análisis de una cierta cantidad de materiales, que incluía información representativa de los dos grupos de variables. Posteriormente, esa información fue codificada y presentada a la red neuronal artificial, con el propósito de implementar las fases de *entrenamiento* y *validación*.

2.3. ALGORITMOS GENÉTICOS

Un algoritmo genético es una técnica de búsqueda iterativa inspirada en los principios de selección natural, la cual no busca modelar la evolución biológica sino derivar estrategias de optimización.

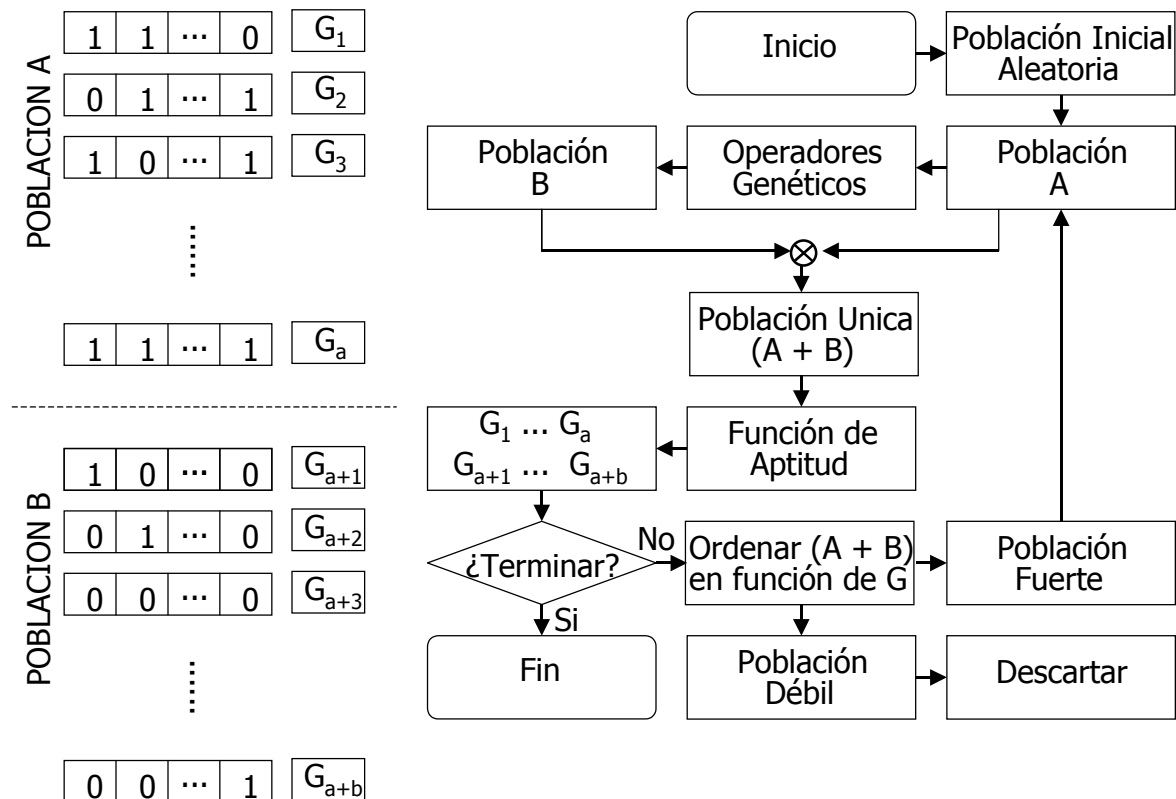
La implementación computacional de un algoritmo genético exige definir cinco elementos fundamentales: i) el objetivo final de la búsqueda, es decir, el conjunto de condiciones que debería satisfacer el individuo ideal; ii) un protocolo de codificación que sirva para representar de forma numérica las características fenotípicas de cada individuo. iii) el universo donde se realizará la búsqueda, es decir, la población donde podría llegar a encontrarse al individuo ideal; iv) una función de aptitud, es decir, un protocolo que sirva para evaluar y cuantificar qué tan cerca se encuentra un individuo de la condición de idealidad; v) un conjunto de operadores que sirva para obtener nuevos individuos a partir de la modificación del genotipo de los individuos ya existentes.

En el caso de nuestro modelo, cada uno de los individuos representa un material y los cinco elementos que definen el algoritmo genético son:

- Objetivo final. Encontrar un material biocompatible que sea capaz de cumplir con una función específica *in vivo*. Desde luego, surgió la necesidad de cuantificar las condiciones que definen al material ideal, lo cual no representa mayor inconveniente en el caso de las propiedades físicas o mecánicas, ya que en dicho caso es posible definir con claridad valores objetivo para cada variable. Sin embargo, en el caso de la biocompatibilidad esta cuantificación resulta ser mucho más complicada, ya que es necesario contar con un marcador que sea representativo del fenómeno *in vivo*. Este aspecto será discutido más adelante.
- Protocolo de codificación. Lógicamente, debe ser exactamente igual al utilizado dentro de las fases de entrenamiento y validación de la red neuronal, y debe incluir la mayor cantidad de información posible sobre las características fisicoquímicas de cada material.
- Universo de búsqueda. Incluye todos los materiales que puedan llegar a ser representados numéricamente a través del protocolo de codificación.
- Función de aptitud. Cada uno de los individuos (materiales) es evaluado a través de la red neuronal entrenada y validada. La aptitud de cada individuo es una representación cuantitativa de qué tan cerca está el material que representa de satisfacer las condiciones de idealidad.
- Operadores genéticos. Dentro del algoritmo se han implementado tres operadores genéticos fundamentales: mutación, translocación y recombinación, los cuales son utilizados con una frecuencia definida en términos probabilísticos.

La primera etapa dentro de la implementación del algoritmo genético consiste en la definición de una población inicial constituida por una cantidad determinada de individuos aleatoriamente generados. Siguiendo el concepto de supervivencia de los más fuertes, los individuos son clasificados en dos subgrupos según su aptitud sea relativamente alta o baja. Los más débiles son desechados, mientras que los más fuertes dan origen a una nueva generación de individuos, los cuales prevalecerán únicamente si son más aptos que sus ancestros. El algoritmo evoluciona de

forma iterativa (figura 2) hasta que converge revelando el genotipo del individuo más apto de todos, el cual representa las características fisicoquímicas que debería tener el material ideal.



- A Población conformada por a cadenas binarias de longitud k
- B Población conformada por b cadenas binarias de longitud k
- G Función de aptitud
- λ Parámetro de máxima aptitud esperada por medio del cual se define el fin del proceso iterativo.

Figura 2. Implementación de un algoritmo genético

3. IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO

Veinte materiales poliméricos fueron utilizados con el objetivo de explorar la relación existente entre su estructura química y sus propiedades finales. La lista de materiales es presentada en la tabla 1.

La base de datos fue desarrollada incluyendo información proveniente de diferentes fuentes [37,38,39,40,41,42,43,44] sobre una propiedad física (*P1-Densidad*), una mecánica (*P2-Módulo de Elasticidad en tensión*), una térmica (*P3-Temperatura de Deflexión bajo carga de 1.8 MPa*), dos de resistencia química (*P4-Frente a ácidos fuertes* y *P5-Frente a álcalis fuertes*) y una eléctrica (*P6-Constante Dieléctrica*) de los materiales en mención.

1	ABS	Acrilonitrilo/Butadieno/Estireno
2	AH	Acetal Homopolímero
3	CAB	Celulosa Acetato Butirato
4	N 6	Nylon 6 (Policaprolactama)
5	N 6,6	Nylon 6,6 (Polihexametilenadipamida)
6	N 12	Nylon 12 (Poli-acido-12-aminododecanóico)
7	PA	Poliarilato
8	PB	Polibutileno
9	PC	Policarbonato
10	PBT	Polibutilen-tereftalato
11	PET	Polietilen-tereftalato
12	PEEK	Polieteretercetona
13	PEI	Polieterimida
14	PMMA	Polimetilmetacrilato
15	PPS	Sulfuro de polifenileno
16	PSO	Polisulfona
17	PTFE	Politetrafluoretileno
18	PVDF	Fluoruro de polivinilideno
19	SAN	Estireno/Acrilonitrilo
20	SB	Estireno/Butadieno

Tabla 1. Lista de materiales utilizados

De otra parte, la representación de su estructura química se logró a través del procesamiento de espectros obtenidos mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflexión total atenuada (ATR-FTIR) [45].

3.1. ESPECTROS INFRARROJOS

Para cada uno de los veinte materiales se obtuvo el espectro ATR-FTIR, el cual es característico de su estructura química al punto de ser considerado como su "huella digital". Esto se debe a que la posición e intensidad de las bandas dependen de las masas de los átomos, de las fuerzas de los enlaces que los vinculan y de su distribución espacial, es decir, de los detalles de la estructura molecular. La figura 1 presenta un ejemplo de estos espectros, en los cuales es posible describir la posición de los picos en términos de la absorbancia y el número de onda.

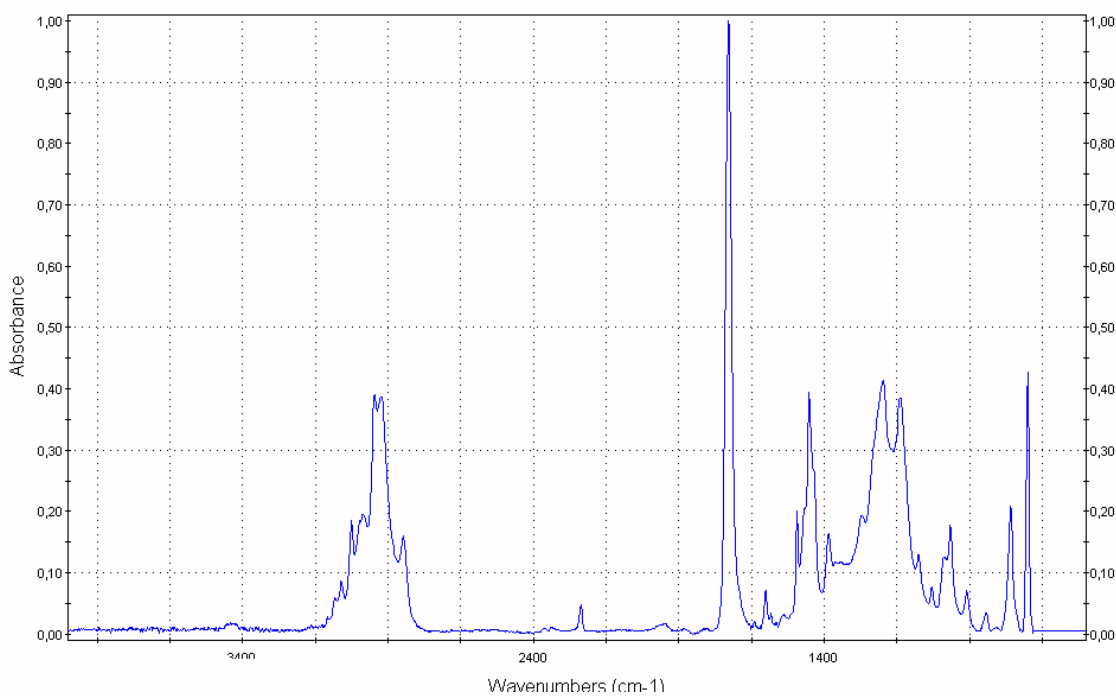


Figura 3. Ejemplo de un espectro ATR-FTIR

El protocolo de procesamiento que fue implementado con el objetivo de codificar la información provista por los espectros puede ser descrito en términos de las siguientes etapas: i) filtración y digitalización del perfil; ii) definición de un umbral por debajo del cual la información es descartada; iii) identificación de los picos de absorción; iv) definición de la resolución con la cual se hará la representación del espectro mediante un vector de valores entre 0 y 1.

3.2. MODELO COMPUTACIONAL

Una red neuronal de tres capas fue implementada. Cada una de las capas está constituida por una cierta cantidad de nodos, cada uno de los cuales recibe y procesa información proveniente de muchos otros nodos.

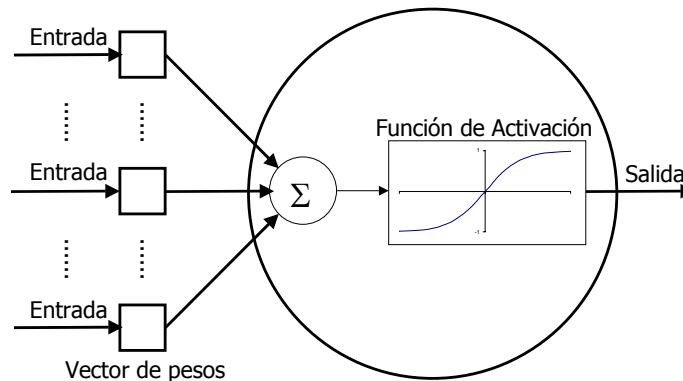


Figura 4. Representación esquemática de un nodo

La red neuronal es entrenada por el método de propagación inversa (figura 3). Cada nodo procesa las señales que recibe mediante la aplicación de dos operadores fundamentales, como se muestra esquemáticamente en la figura 2. La función sigmoidea de activación está definida por la siguiente expresión:

$$f(x) = \frac{1}{1 + \exp(-gx)}$$

La arquitectura de la red esta definida por cinco factores fundamentales:

- Numero de salidas de la red.
- Numero de nodos en la capa oculta.
- Factor g de la función sigmoidea de activación.
- El rango de valores dentro de los cuales pueden escogerse aleatoriamente los pesos iniciales.
- Velocidad de aprendizaje dentro del proceso de entrenamiento.

Con el objetivo de definir la arquitectura mas adecuada para el tipo de problema que está siendo modelado, se implementó un algoritmo genético con las siguientes características:

- Objetivo final: Encontrar la arquitectura de red que permita la mejor adaptación al fenómeno que se está modelando.
- Protocolo de codificación: Codificación binaria de los cinco factores fundamentales anteriormente descritos. En este caso, cada individuo es representado por vector de 24 bits.
- Universo de búsqueda. Consecuentemente, dentro del proceso de optimización se exploraron 224 posibles arquitecturas.
- Función de aptitud. Corresponde al error total obtenido de los procesos de *entrenamiento* y *validación* para todos los elementos que constituyen la base de datos disponible.
- Operadores genéticos. Mutación, translocación y recombinación.

3.3. PROPIEDADES

La tabla 2 presenta los valores reales para las seis propiedades descritas anteriormente. Todos los valores fueron normalizados entre 0 y 1, para posteriormente ser codificados en código binario,

dando origen vectores cuya longitud puede variar entre 3 y 10 bits, según se defina la resolución de la salida.

		P1	P2	P3	P4*	P5*	P6
		g/cm3	Mpa	°C			
1	ABS	1.06	2416	102	-	-	3.0
2	AH	1.41	2879	121	6	5	3.7
3	CAB	1.19	1510	65	7	7	4.5
4	N 6	1.13	2572	90	5	4	4.1
5	N 6,6	1.14	2683	94	5	4	3.8
6	N 12	1.04	1515	59	-	-	3.6
7	PA	1.21	2034	173	-	-	3.0
8	PB	0.94	293	57	5	0	2.5
9	PC	1.21	2224	133	4	5	3.0
10	PBT	1.32	2711	64	1	5	3.0
11	PET	1.35	3019	88	3	3	3.2
12	PEEK	1.32	3804	162	4	1	3.3
13	PEI	1.30	3345	200	3	5	3.2
14	PMMA	1.18	3030	82	4	0	3.3
15	PPS	1.38	3307	150	4	2	3.0
16	PSO	1.24	2568	172	3	3	3.1
17	PTFE	2.18	506	58	0	0	2.1
18	PVDF	1.77	1745	95	3	1	8.1
19	SAN	1.09	3573	92	3	2	2.9
20	SB	1.00	-	73	-	-	2.5

* Las propiedades P4 y P5 son cuantificadas a través de la siguiente escala:

0	Not Attacked/No effect
1	Resistant
2	Good resistance
3	Minimally attacked
4	Poor resistance
5	Attacked
6	Not resistant
7	Badly Attacked

Tabla 2. Base de Datos utilizada

4. RESULTADOS

El proceso de optimización de la arquitectura de la red arrojó los siguientes resultados:

- Numero de nodos en la capa oculta: 72
- Factor g de la función sigmoidea de activación: 0.2
- El rango de valores dentro de los cuales pueden escogerse aleatoriamente los pesos iniciales: [-3.8,3.8]
- Velocidad de aprendizaje dentro del proceso de entrenamiento: 0.3

Utilizando estos valores, y una codificación de cinco bits para las salidas, se implementaron los procesos de entrenamiento y validación para todas las propiedades escogidas para formar parte de la base de datos.

La tabla 3 presenta los resultados finales obtenidos a partir de la red neuronal para todas las propiedades. En la primera columna se utiliza la letra 'e' para indicar si ese material fue utilizado durante el proceso de entrenamiento, la letra 'v' si – por el contrario – ese material fue utilizado para validar la red. Los valores calculados para cada una de las propiedades, expresados en términos de intervalos, son presentados en la columna adyacente. Finalmente, si existe alguna diferencia con los intervalos reales, se presenta en la columna marcada con el símbolo Δ .

En términos generales, la capacidad de predicción de la red neuronal es bastante buena. Únicamente en dos (P2 y P3) de las seis propiedades se presentaron desfases considerables entre los valores reales y los calculados por la red. Esta situación puede deberse a la existencia de otras variables, además de la composición química, capaces de influenciar dichas propiedades.

			P1 - DENSIDAD		P2 - MOD. DE ELAST.			P3 - T. DE DEFL.		
			g/cm3	Δ	Mpa	Δ	°C	Δ		
1	ABS	e	1.04 - 1.11		e	2417 - 2599	92	e	99 - 106	
2	AH	e	1.37 - 1.43		e	2780 - 2961		e	121 - 129	
3	CAB	v	1.17 - 1.24		e	1498 - 1686		e	62 - 69	
4	N 6	e	1.11 - 1.17		v	2599 - 2780	117	e	84 - 91	
5	N 6,6	e	1.11 - 1.17		e	2599 - 2780		e	91 - 99	
6	N 12	e	1.04 - 1.11		e	1498 - 1686		e	54 - 62	
7	PA	e	1.17 - 1.24		v	404 - 586	1539	e	166 - 173	
8	PB	e	0.92 - 0.98		e	223 - 404		v	114 - 121	60
9	PC	v	1.04 - 1.11	0.14	e	2049 - 2230		e	129 - 136	
10	PBT	v	1.50 - 1.56	0.21	e	2599 - 2780		e	62 - 69	
11	PET	e	1.30 - 1.37		e	2961 - 3149		v	181 - 188	96
12	PEEK	e	1.30 - 1.37		e	3693 - 3880		e	158 - 166	
13	PEI	e	1.30 - 1.37		v	2230 - 2417	1021	e	195 - 203	
14	PMMA	v	1.11 - 1.17	0.03	e	2961 - 3149		e	76 - 84	
15	PPS	e	1.37 - 1.43		e	3149 - 3330		e	144 - 151	
16	PSO	e	1.24 - 1.30		v	2417 - 2599		e	166 - 173	
17	PTFE	e	2.14 - 2.21		e	404 - 586		v	158 - 166	104
18	PVDF	e	1.75 - 1.82		e	1686 - 1867		v	62 - 69	30
19	SAN	e	1.04 - 1.11		e	3511 - 3693		e	91 - 99	
20	SB	e	0.98 - 1.04		x			e	69 - 76	

			P4 - RES. ACIDO F.		P5 - RES. ALCALI F.			P6 - CONST. DIELEC.		
				Δ		Δ		Δ		
1	ABS	x			x			e	2.9 - 3.2	
2	AH	e	6 - 6		v	1 - 2	4	v	2.9 - 3.2	1
3	CAB	e	7 - 7		e	7 - 7		e	4.5 - 4.8	
4	N 6	v	5 - 5		v	4 - 4		e	3.9 - 4.2	
5	N 6,6	e	5 - 5		e	4 - 4		e	3.5 - 3.9	
6	N 12	x			x			e	3.5 - 3.9	
7	PA	x			x			e	2.9 - 3.2	
8	PB	e	5 - 5		e	0 - 0		v	4.5 - 4.8	2
9	PC	v	2 - 3	1	e	5 - 5		e	2.9 - 3.2	
10	PBT	e	1 - 1		e	4 - 5		e	2.9 - 3.2	
11	PET	e	3 - 3		e	3 - 3		e	2.9 - 3.2	
12	PEEK	e	4 - 4		e	1 - 1		v	2.9 - 3.2	
13	PEI	e	2 - 3		e	5 - 5		e	2.9 - 3.2	
14	PMMA	e	3 - 4		e	0 - 0		e	3.2 - 3.5	
15	PPS	e	4 - 4		e	2 - 2		e	2.9 - 3.2	
16	PSO	e	2 - 3		e	2 - 3		v	2.9 - 3.2	
17	PTFE	v	0 - 1		v	3 - 3	3	e	2.0 - 2.3	
18	PVDF	e	2 - 3		e	1 - 1		e	7.9 - 8.2	
19	SAN	e	2 - 3		e	1 - 2		e	2.6 - 2.9	
20	SB	x			x			e	2.3 - 2.6	

Tabla 3. Resultados Obtenidos

5. LINEAMIENTOS GENERALES PARA EL MODELAMIENTO DE LA BIOCOPATIBILIDAD

Es bien sabido que para llegar a utilizar clínicamente un dispositivo artificial es necesario efectuar una gran cantidad de pruebas de laboratorio que garanticen que los beneficios obtenidos al implantarlo excederán, de manera considerable, cualquier riesgo que pueda ser asociado a su uso. Lógicamente, este principio cubre de manera tácita todos los materiales que son utilizados en el desarrollo de un implante. Por ejemplo, una válvula cardíaca es normalmente fabricada de polímeros, metales y carbonos, los cuales tienen ciertas propiedades e interactúan con el organismo receptor de una manera específica.

Este hecho condujo, en 1986, a una reunión entre autoridades canadienses, británicas y estadounidenses, en la cual se concertó el desarrollo de la conocida Guía Tripartita de Biocompatibilidad para Dispositivos Médicos. Más tarde, en la década de los 90, la Organización Internacional de Estándares (ISO), en un esfuerzo para armonizar las pruebas de biocompatibilidad, desarrolló la norma ISO-10993, la cual cuenta hoy en día con 17 capítulos agrupados bajo el título "Estándares para la Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos".

Desde el punto de la biocompatibilidad, el fracaso en la utilización de un biomaterial está asociado directamente a ocho fenómenos fundamentales, a saber: i) inflamación, ii) activación del complemento, iii) trombogénesis, iv) hipersensibilidad, v) toxicidad, vi) calcificación, vii) hemólisis, y viii) fibrosis. Estos fenómenos se encuentran íntimamente relacionados entre sí, de manera tal que el cuerpo humano genera un mecanismo de defensa global contra las posibles agresiones de las que pueda ser objeto por la presencia de un cuerpo extraño. En términos generales esta respuesta se conoce como "Reacción ante un Cuerpo Extraño" (figura 3).

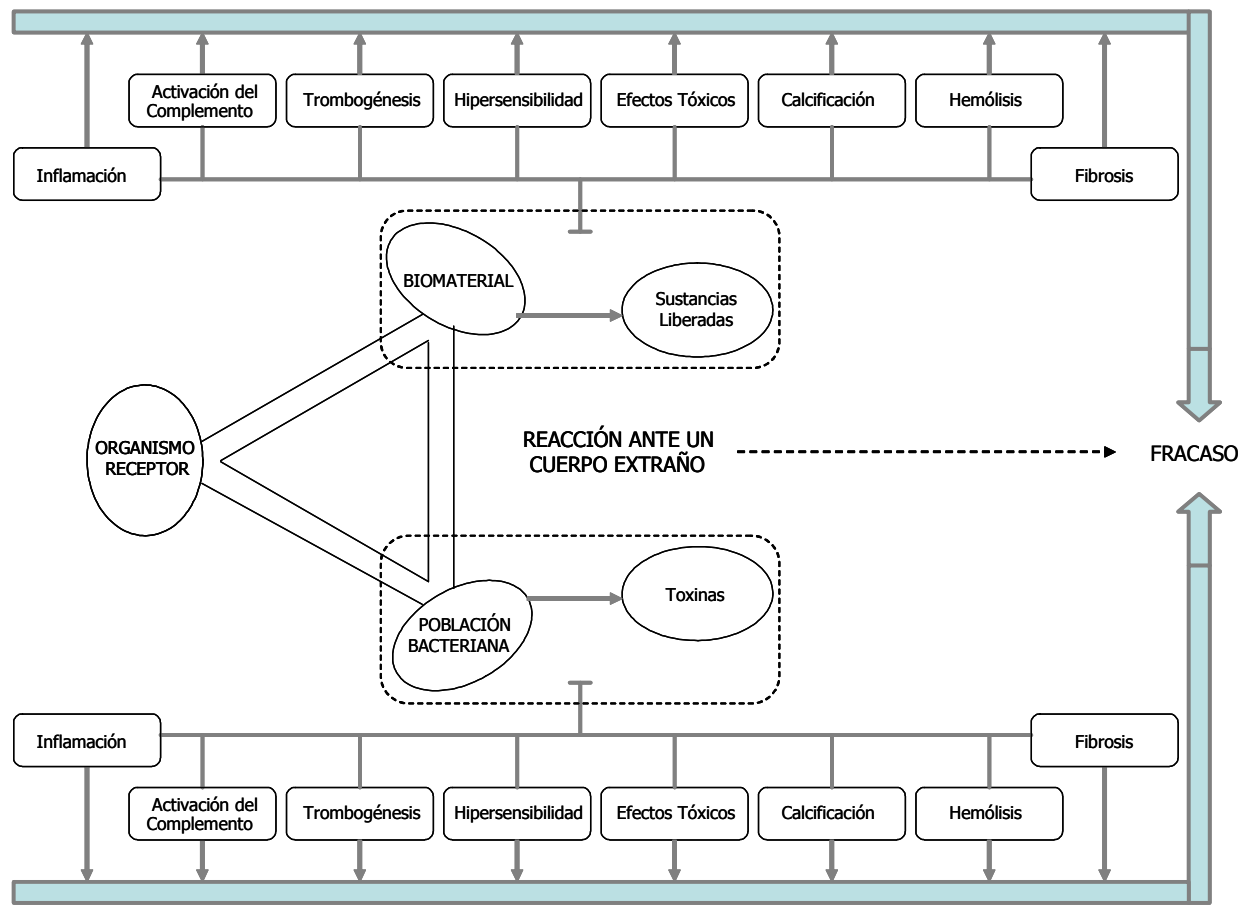


Figura 5. Representación esquemática de la Reacción ante un Cuerpo Extraño

Esta estrecha relación ha sido evidenciada, por ejemplo, a través del estudio de los procesos de activación de leucocitos en presencia de un biomaterial. Se ha encontrado que algunas de estas poblaciones celulares estimulan los procesos de coagulación a través de la secreción del factor activador de plaquetas (PAF) [46]. Así mismo, se sabe que la activación de trombocitos se ve adicionalmente favorecida por la adsorción de inmunoglobulinas tipo IgG sobre la superficie del implante [47], así como por la presencia de ciertos factores (C5a, C5b-9) producto de la activación del complemento [12].

La inducción de este último fenómeno por parte de los biomateriales ha sido ampliamente documentada en los últimos años, y se ha llegado a proponer que la interacción entre células del sistema inmune, especialmente monocitos, y una superficie artificial es inducida a través de un proceso de opsonización [48]. Es más, la activación del complemento podría mediar en la generación de una respuesta de hipersensibilidad inmediata a través de la producción de una potente anafilotoxina (C3a), la cual induce la degranulación incontrolada de mastocitos [47].

Un ejemplo más que ilustra la compleja relación entre estos fenómenos está asociado a los procesos de fibrosis que ocasionalmente afectan el desempeño de prótesis mamarias, así como de otros tipos de implantes (como, por ejemplo, el shunt lumboperitoneal utilizado en el tratamiento quirúrgico de la hidrocefalia). En efecto, se ha llegado a proponer que la fibrosis es inducida indirectamente por el implante a través de la activación de algunas poblaciones de células inmunocompetentes [49].

La norma ISO-10993 propone una serie de pruebas *in vitro* a través de las cuales se trata de predecir la biocompatibilidad de un material mediante la identificación de algunos marcadores característicos de las cascadas de reacciones bioquímicas involucradas. Algunos de estos marcadores son: el complejo trombina-antitrombina (trombogénesis), la bradiquinina (inflamación), C5a (activación del complemento) y CR3 (activación de leucocitos) [12].

Sin embargo, la escasez de avances significativos en la solución de problemas clínicos asociados a la falta de biocompatibilidad, genera dudas acerca de la validez de estos procedimientos experimentales. Es una realidad clínica que las complicaciones asociadas a cuadros de trombosis, inflamación e infección son aún los más grandes obstáculos que impiden el éxito a largo plazo de los dispositivos artificiales implantados [46, 50].

En el caso específico de la trombogénesis, por ejemplo, se utilizan, además de la ya mencionada, otras técnicas *in vitro* como la cuantificación de plaquetas depositadas sobre la superficie del material. Sin embargo, y a pesar de la gran cantidad de trabajos de investigación que existen al respecto, la realidad es que una superficie verdaderamente no-trombogénica simplemente no existe. Como lo señalan investigadores de los Departamentos de Ingeniería Química e Ingeniería Biomédica de la Universidad de Toronto (Canadá): "... quizás los criterios de evaluación actualmente utilizados no son los más adecuados, o tal vez son simplemente obsoletos. (...) únicamente cuando el objetivo a alcanzar sea absolutamente claro, será posible identificar estrategias igualmente claras para producir los materiales que necesitamos..." [51].

Por tal razón, nosotros creemos que el primer paso hacia el desarrollo de una estrategia coherente de diseño de biomateriales consiste en lograr una descripción precisa de aquellos fenómenos que son responsables del desempeño *in vivo* de un dispositivo implantado.

Es bien sabido que cuando un implante artificial entra en contacto con el medio fisiológico libera con frecuencia diferentes tipos de sustancias, cuyo tamaño puede variar ampliamente. Los implantes metálicos, por ejemplo, pueden liberar diferentes tipos de iones como consecuencia de los procesos de corrosión inducidos principalmente por el cloro y el oxígeno normalmente presentes en los fluidos fisiológicos [52]. En el caso de los materiales poliméricos, son los aditivos de bajo peso molecular los que pueden migrar fuera del implante afectando de alguna manera la estabilidad fisiológica del organismo receptor. Diferentes estudios han demostrado, por ejemplo,

que al utilizar implantes desarrollados a base de poliuretano (PU) se induce la migración de por los menos veinte tipos diferentes de compuestos, la mayoría de los cuales corresponden a aditivos comúnmente utilizados como antioxidantes y estabilizadores [53].

De igual forma, ha sido posible establecer que las sustancias liberadas por los materiales artificiales implantados, incluidos los iones metálicos, tienen la capacidad potencial de activar células inmunocompetentes, como neutrófilos y macrófagos, induciendo de esta manera procesos inflamatorios [54, 55, 56].

Estos fenómenos nos hacen pensar que el conjunto de manifestaciones clínicas normalmente asociadas al fracaso de un biomaterial puede corresponder simplemente a un proceso bioquímico normal que surge como respuesta ante la agresión inducida por la presencia misma del material. Tratar de luchar contra esa respuesta, sin conocer a profundidad los mecanismos que la generan, equivale a querer controlar y aplacar los síntomas de una enfermedad sin detenerse a evaluar su etiología.

Ahora bien. En el estudio de la respuesta biológica generada por la presencia de un implante artificial es necesario tener en cuenta, además de las características fisicoquímicas del material como tal, y de las sustancias que pueda llegar a liberar, la posible colonización de la superficie por parte de bacterias.

Además de los posibles efectos citotóxicos que pueden presentarse, este tipo de infecciones pueden inducir procesos trombogénicos de forma directa a través de las bacterias mismas, o indirectamente debido a las toxinas por ellas producidas. Como resultado, se estimula la agregación plaquetaria, el factor *Hageman* es activado, y los niveles sistémicos de la antitrombina III se ven considerablemente disminuidos [46]. Adicionalmente, los trombos que son formados sirven como

puntos de nucleación para la adhesión bacteriana, lo cual facilita los procesos de colonización y proliferación.

Ante la evidente complejidad de los fenómenos anteriormente descritos, y teniendo como objetivo fundamental la evaluación precisa de la biocompatibilidad de un material, nosotros creemos que el primer paso que debe darse consiste en establecer en qué medida las partículas y sustancias liberadas por el implante, así como las bacterias que pueden llegar a colonizar su superficie, son las verdaderas responsables de la respuesta biológica observada. Así mismo, debería ser posible evaluar de manera independiente los efectos negativos que puedan ser asociados de forma directa con las características fisicoquímicas de la superficie como tal.

Como respuesta biológica negativa debe entenderse la activación de uno o varios de los ocho fenómenos descritos anteriormente como parte de la llamada "reacción ante un cuerpo extraño", los más importantes de los cuales son analizados a continuación:

5.1. INFLAMACIÓN

La inflamación crónica inducida por un implante (figura 4) se hace evidente cuando el número de neutrófilos capaces de infiltrar la interfase tejido-material disminuye, y la población local de monocitos se adhiere a la superficie del implante para diferenciarse en macrófagos, los cuales pueden fusionarse para formar Células Gigantes de Cuerpo Extraño (FBGCs) [57].

Desde el punto de vista bioquímico, los macrófagos juegan un papel fundamental dentro de este proceso debido a la capacidad que tienen de liberar muchos tipos de citoquinas como el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), el cual puede influenciar la respuesta inflamatoria a través de la activación de muchos otros tipos de células.

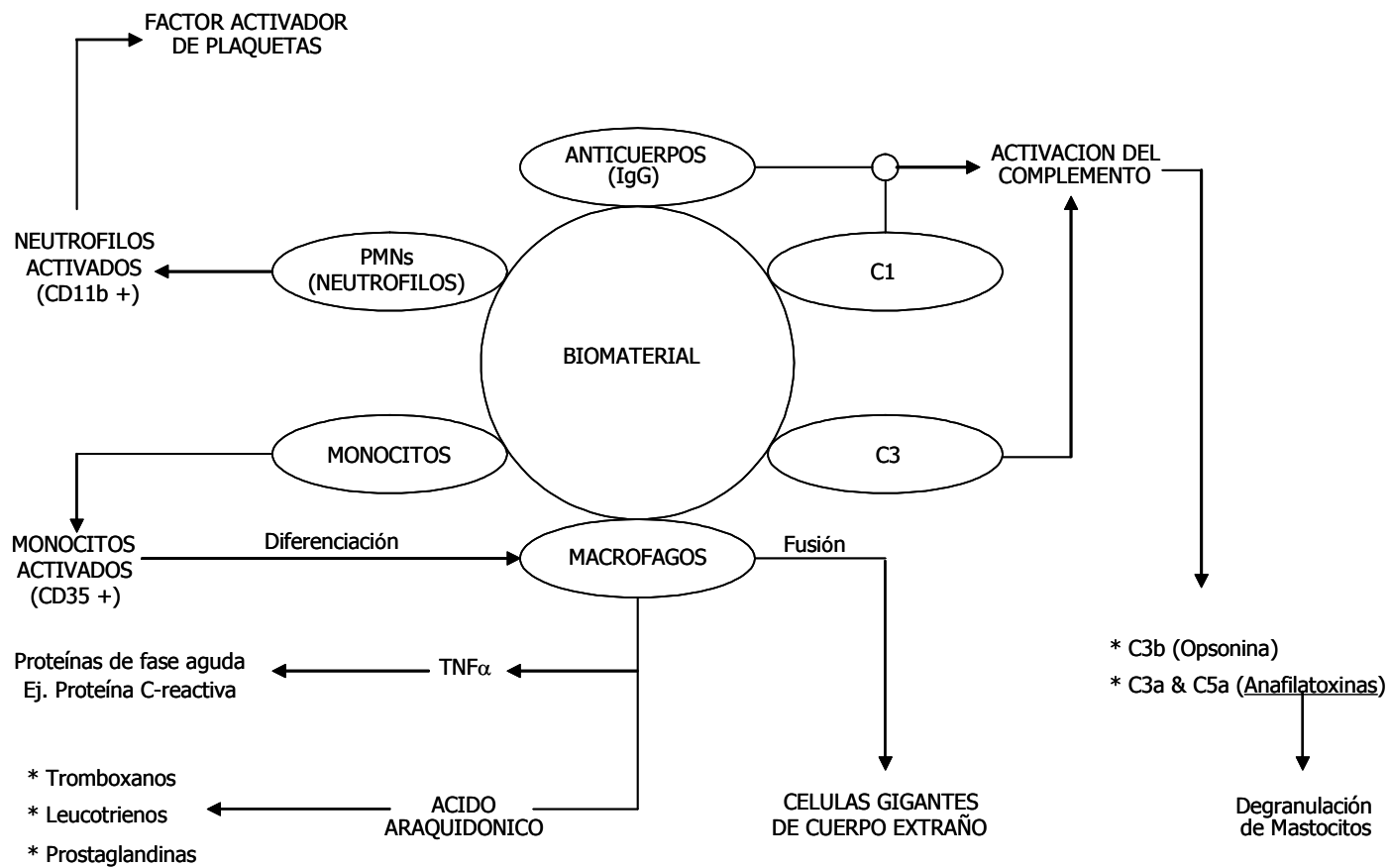


Figura 6. Representación esquemática de los fenómenos de Inflamación y Activación del Complemento

En el caso de implantes metálicos, es bien sabido que los iones metálicos pesados, los cuales pueden liberarse después de la implantación, pueden inducir – inclusive a concentraciones muy bajas – la adhesión de granulocitos polimorfonucleares (PMNs) a monocapas de células endoteliales (ECs), el cual es uno de los pasos fundamentales en la activación del proceso inflamatorio [56]. La consecuente liberación de algunos mediadores como el Leucotrieno B4 es frecuentemente utilizada para monitorear la dinámica de este proceso.

5.2. ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO

Es bien sabido que la activación del complemento debido a la presencia de una superficie polimérica es común en los procedimientos de hemodiálisis, derivación cardiopulmonar, hemofiltración, y después del implante de una válvula cardiaca artificial. Sin embargo, los mecanismos exactos que gobiernan este fenómeno aún no han sido plenamente elucidados (figura 4).

En el caso, por ejemplo, del circuito de circulación extracorpórea empleado en las cirugías cardiovasculares, se sabe que el tercer componente del complemento (C3) se adhiere a la superficie a las superficies del equipo liberando C3a, el cual es un potente factor quimiotáctico. El fragmento restante que queda sobre el material tiene la capacidad de recibir y activar el factor β y la properdina, dando origen al complejo proteolítico conocido como C3-convertasa.

La hipótesis inicial según la cual la activación del complemento inducida por un cuerpo extraño es mediada únicamente por la vía alternativa, ha sido cuestionada fuertemente [51]. Actualmente se cree que los biomateriales son capaces de establecer relaciones con las dos ramas del sistema de complemento, gracias a la adhesión superficial de C3 (vía alternativa) o C1 (vía clásica) [1].

Adicionalmente, las proteínas plasmáticas que son adsorbidas sobre la superficie de los biomateriales, como por ejemplo la calicreina y la plasmina, pueden desarrollar cierta actividad proteolítica induciendo la activación de algunos mediadores del sistema de complemento [47].

5.3. TROMBOGÉNESIS

Es generalmente aceptado que toda interacción entre un dispositivo implantado y el organismo receptor empieza por la adsorción de proteínas plasmáticas, entre las cuales encontramos la fibronectina, la vitronectina, el fibrinógeno y el factor de von Willebrand. La interacción de esas proteínas con ciertas líneas celulares parece definir en buen parte la respuesta del organismo ante la presencia de un cuerpo extraño como un implante. Se ha podido establecer, por ejemplo, que los materiales que adsorben una menor cantidad de fibrinógeno presentan una menor adhesión plaquetaria y por lo tanto exhiben una menor trombogenicidad [58].

Adicionalmente, ha sido posible establecer que el factor tisular (FT) puede ser expulsado a través de la superficie de las células vasculares en forma de pequeñas vesículas lipídicas, las cuales conservan la actividad del FT. La adhesión de estas partículas a superficies artificiales puede derivar en la activación de los procesos de coagulación (figura 5). Esto puede ser especialmente crítico en los casos donde el implante se encuentra cerca a un vaso sanguíneo deteriorado. Efectivamente, estudios realizados con una gran variedad de materiales demostraron que el factor tisular (FT), expulsado de las células de músculo liso vascular, puede adherirse a las superficies y promover la activación del factor X de coagulación [59].

Por el contrario, los resultados obtenidos son bastante difusos en cuanto la relación existente entre las características fisicoquímicas de un biomaterial y su capacidad para inducir procesos de coagulación. No ha sido posible, por ejemplo, determinar si una superficie debe tener un carácter hidrofóbico o hidrofílico. La falta de acuerdo se debe básicamente al poco entendimiento que se

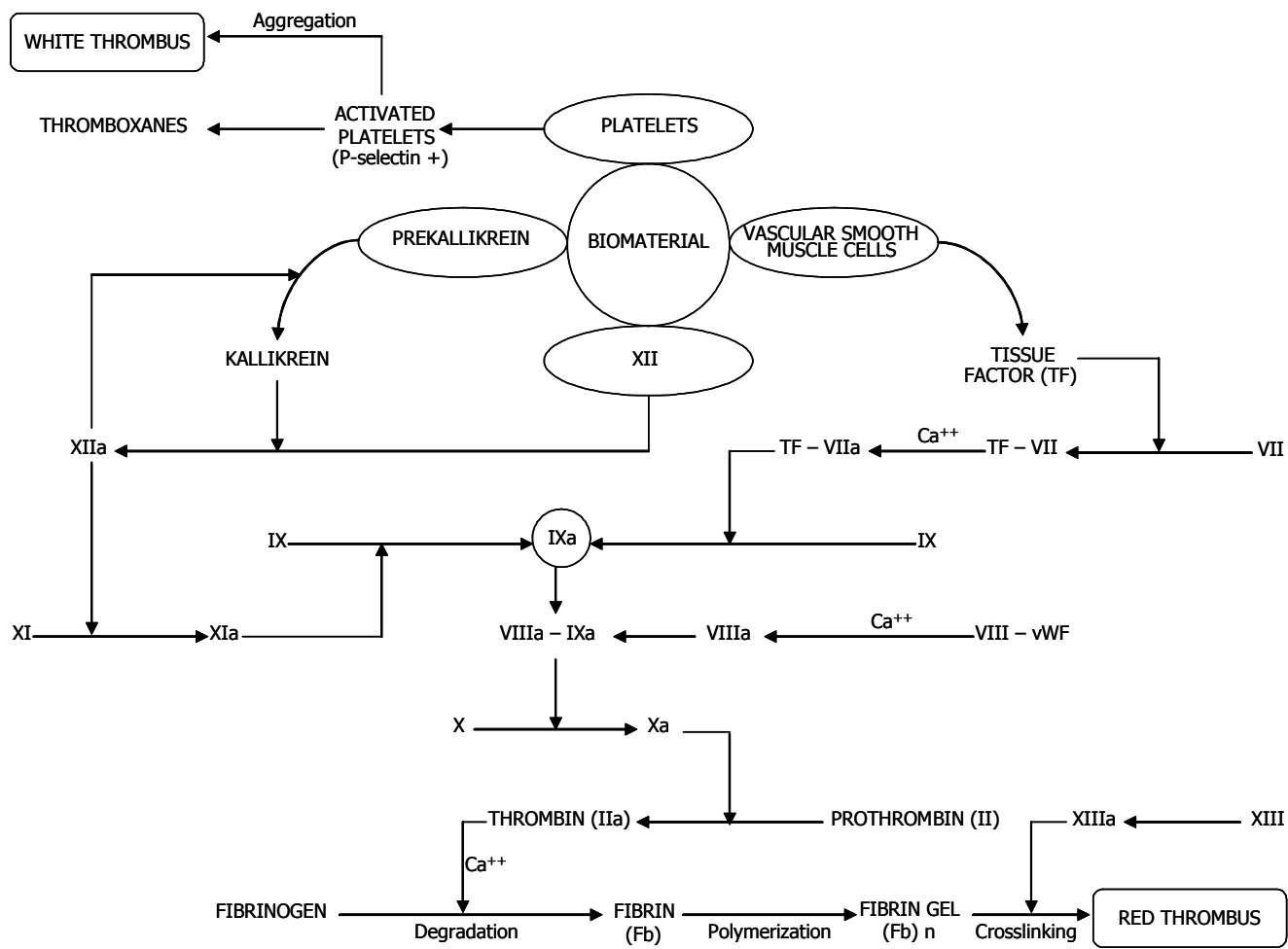


Figura 7. Representación esquemática de la Trombogénesis

tiene sobre los procesos biológicos que conducen al fracaso en el uso de un biomaterial, y a la imposibilidad de evaluar la respuesta de diversos materiales ante el contacto con sangre. A pesar del éxito alcanzado a través de la reducción de depósitos celulares y proteicos sobre algunos materiales, una superficie verdaderamente no-trombogénica no existe [51].

Algunos estudios han demostrado que aún en la ausencia de adhesión, las plaquetas pueden ser 'consumidas'. Dicha observación sugiere que una baja adhesión plaquetaria no es un criterio adecuado para la evaluación de compatibilidad in vivo [51].

5.4. HIPERSENSIBILIDAD

Fundamentalmente, los cuatro tipos de reacciones de hipersensibilidad pueden desarrollarse a causa de un implante: i) reacción ante la liberación de sustancias fisiológicamente activas; ii) reacción ante antígenos de superficie; iii) reacciones mediadas por complejos inmunes; y iv) una reacción de hipersensibilidad retardada, en la cual ciertas citoquinas son liberadas, los macrófagos son activados, y la acción desbordada de éstos últimos induce daños tisulares locales.

En el caso de la dermatitis alérgica inducida por contacto con implantes, o bien con los compuestos químicos que éstos liberan, el mecanismo de respuesta puede resumirse en la siguiente secuencia de eventos: primero, el antígeno es tomado por las células de Langerhans, después de lo cual ocurre la migración desde la epidermis hasta los vasos linfáticos aferentes. Mientras viajan al nodo linfático regional, las células de Langerhans maduran y adquieren la capacidad de procesamiento y presentación de antígenos. En las áreas paracorticales del nodo linfático ocurre la activación de linfocitos T, las cuales pueden convertirse en células efectoras o de memoria. Las primeras entran al torrente sanguíneo, y guiadas por medio de receptores especializados viajan hasta la piel donde pueden inducir la apoptosis de queratinocitos y otras líneas celulares [60].

5.5. TOXICIDAD

La citotoxicidad inducida por materiales sintéticos implantados puede generar reacciones locales como la inflamación crónica, así como reacciones sistémicas de tipo alérgico, al tiempo que puede convertirse en un factor de riesgo adicional para la expresión de oncogenes en ciertas líneas celulares [53].

Existen básicamente dos posibles fuentes de sustancias que pueden llegar a ser tóxicas, en primera instancia, para las poblaciones celulares aledañas al sitio del implante: i) sustancias liberadas por el implante mismo, y ii) toxinas liberadas por una población bacteriana que logre colonizar la superficie del biomaterial.

Un ejemplo del primer caso son los materiales poliméricos, los cuales se ha encontrado que pueden liberar compuestos de bajo peso molecular que migran desde el seno del implante hacia el organismo receptor pueden inducir cierto nivel de actividad fisiológica anormal debido, principalmente, al mayor o menor riesgo cito-toxicológico que representen. Por tal razón, en términos generales, se considera que un biomaterial no debería liberar al organismo sustancia alguna a menos que sea diseñado específicamente para hacerlo, como en el caso de los sistemas de liberación controlada de medicamentos.

En el segundo caso, una población bacteriana que llega al sitio del implante durante el procedimiento quirúrgico, o bien de forma posterior a través del torrente sanguíneo, logra establecerse y proliferar sobre la superficie del biomaterial, protegiéndose y haciéndose resistente a la acción defensiva del organismo mismo, así como a la acción de los antibióticos que puedan llegar a utilizarse para tratar de controlar la infección.

Las razones exactas por las cuales estas poblaciones bacterianas llegan a ser tan difíciles de erradicar no se conocen en su totalidad. En general, se cree que la colonización de la superficie de un implante se lleva a cabo en dos etapas: i) Adhesión de las bacterias a la superficie del biomaterial, ii) formación de una biopelícula protectora la cual es producida a partir de algunas sustancias extracelulares segregadas por las bacterias mismas, así como por algunos factores provenientes del organismo receptor como, por ejemplo, proteínas tisulares y plasmáticas, y plaquetas.

Esta biopelícula hace que el sitio del implante sea mucho más susceptible al ataque de ciertas poblaciones bacterianas. En efecto, diferentes estudios han demostrado que el inóculo de una bacteria requerido para iniciar una infección se ve dramáticamente disminuido ante la presencia de un material extraño, en un factor que puede alcanzar el orden de 10^6 [46].

Adicionalmente, se ha encontrado que la presencia de un cuerpo extraño afecta los mecanismos de defensa del organismo receptor reduciendo, por ejemplo, la capacidad fagocítica de los leucocitos polimorfonucleares [31].

5.6. FIBROSIS

Cuando un organismo detecta la presencia de un cuerpo extraño de las características de un implante artificial intenta eliminarlo mediante los mecanismos celulares y humorales ya descritos. Dichas acciones, aunque pueden llegar a afectar la estabilidad física y mecánica de una prótesis, resultan lógicamente insuficientes para eliminarla por completo, por lo que el organismo responde tratando de encapsularla y aislarla con el objetivo de minimizar la cantidad de tejidos con los que puede tener contacto directo, evitando así que los posibles daños que pueden ser inducidos se propaguen a través del organismo.

Sin embargo, en muchas ocasiones, y a pesar de lo conveniente que pueda parecer este mecanismo, la encapsulación está muy lejos de ser una condición garante de biocompatibilidad, y se convierte en un fenómeno más que pone en riesgo el cumplimiento de las funciones para las cuales el dispositivo artificial fue diseñado e implantado.

Se sabe, por ejemplo, que la fibrosis inducida por una prótesis limita considerablemente la neovascularización del sitio del implante, lo cual representa una situación ideal para una rápida colonización bacteriana [61].

Las cascadas bioquímicas responsables del proceso de encapsulación de un implante son controladas básicamente mediante la acción balanceada entre las enzimas de degradación de la matriz extracelular, las llamadas metaloproteinasas (MMPs), y sus inhibidores naturales, los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMPs). Se ha encontrado, por ejemplo, que la enzima MMP-9 se expresa intensamente en las células gigantes multinucleadas (FBGCs), así como en los macrófagos, presentes en la interfase entre un biomaterial y la cápsula fibrilar que lo rodea [56].

El diseño de biomateriales que logren una mejor integración con el organismo receptor es reconocido por muchos científicos como un objetivo fundamental de la Ingeniería Biomédica. Buddy Ratner, de la Universidad de Washington, afirma: "Los artefactos médicos implantables son esenciales para la práctica moderna de la medicina, ya que gracias a ellos ha sido posible mejorar la calidad de vida de millones de personas alrededor del mundo. Sin embargo, los implantes siguen siendo objetos extraños para el cuerpo humano, por lo cual son normalmente encapsulados y aislados por el organismo" [14].

6. PROPUESTA DE UNA PRUEBA *IN VITRO* PARA LA EVALUACIÓN PARCIAL DE LA BIOCMPATIBILIDAD DE UN MATERIAL

El objetivo de este capítulo es presentar un protocolo experimental original, que ha sido diseñado para aportar nuevas perspectivas al estudio y análisis del fenómeno de compatibilidad biológica de materiales artificiales.

De ser aplicado, este protocolo permitiría no solo estudiar la intensidad de la reacción biológica inducida al poner en contacto una población de células inmunocompetentes con un material artificial determinado, si no que aportaría las bases necesarias para establecer en qué medida la migración de sustancias de bajo peso molecular, inducida por el contacto entre el material artificial y el medio fisiológico que lo rodea, puede llegar a determinar la intensidad de la respuesta biológica observada.

6.1. MATERIALES

Para realizar el estudio proponemos utilizar la mayor cantidad posible de materiales poliméricos de la siguiente lista de posibilidades:

- Acrilonitrilo-Butadieno-Estireno (ABS)
- Acetal Copolímero
- Acetal Homopolímero
- Polibutilentereftalato (PBT)
- Policarbonato (PC)
- Polimetilmetacrilato (PMMA)
- Poliariletersulfona (PAES)
- Poliamidaimida (PAI)
- Poliarilsulfona (PAS)

- Polibencimidazol (PBI)
- Polimida (PI)
- Polietilentereftalato (PET)
- Poli (etilen/tetrafluoroetileno) (PETFE)
- Sulfuro de polifenileno (PPS)
- Policetona (PK)
- Policlorotrifluoretileno (PCTFE)
- Fluoruro de polivinilideno (PVDF)
- Polieterecetercetona (PEEK)
- Polietirimida (PEI)
- Polietersulfona (PES)
- Politetrafluoretileno (PTFE)
- Poliarilato (PAr)
- Polimetilpenteno (PMP)

Los materiales tendrán la forma de discos con un diámetro entre 0.5 y 1.0 pulgadas, y un grosor entre 0.10 y 0.25 pulgadas. Adicionalmente se requerirán los siguientes elementos:

- Vacutainer plástico (+ EDTA): para tomar las muestras sanguíneas.
- Ficoll-Hypaque: para separar las diferentes poblaciones celulares.
- Solución de azul de tripán: para evaluar la viabilidad celular.
- Medio de cultivo celular RPMI-1640.
- Penicilina-Estreptomicina: para garantizar condiciones de esterilidad durante la incubación.
- Buffer PBS: para diluir los anticuerpos monoclonales.
- Buffer fosfato Krebs-Ringer modificado (KRPG): para suspender los glóbulos blancos recuperados.
- Anticuerpo monoclonal Anti-CD11b Humano (+ FITC).

6.2. MÉTODOS (Figura 6)

- a) Recolectar las muestras de sangre a partir de voluntarios sanos que no tengan ningún tipo de implante al momento del ensayo. La condición de cada donante será evaluada mediante

consulta con un médico general y complementada a través de la realización de un cuadro hemático.

- b) Separar las diferentes poblaciones celulares mediante centrifugación en gradiente de Ficoll-Hypaque. Retirar el plasma, recuperar la fracción de glóbulos blancos mediante aspiración directa con pipeta y suspenderlos en Buffer fosfato Krebs-Ringer modificado (KRPB) hasta el momento de la incubación.
- c) En una placa multipozos colocar las muestras del material bajo estudio, adicionar el plasma, el medio de cultivo, los antibióticos, y finalmente una cantidad conocida de células. Dejar uno o dos pozos libres con el objetivo de utilizarlos como control.
- d) Incubar durante 24 horas a 37 °C.
- e) Recuperar las células y evaluar la viabilidad mediante el uso de una solución de azul de tripán.
- f) Evaluar la expresión de CD11b y/o CD16 mediante citometría de flujo.

Diferentes estudios han evaluado *in vitro* la adhesión y subsecuente activación de leucocitos polimorfonucleados (PMNs) en contacto con ciertas superficies artificiales. Según el mecanismo que ha sido propuesto, una vez se inicia el contacto directo es posible evidenciar un aumento en la expresión del receptor Fc-gama RIII, también conocido como CD16, la cual progresivamente se ve complementada por un aumento de la expresión de la integrina CD11b [62,63,64,65].

El complejo CD11b/CD18 es una glicoproteína heterodimérica que pertenece a la familia de las integrinas $\beta 2$, y es también conocido como complejo MAC-1, CR3 y MO-1. Normalmente es expresado en la superficie de monocitos, PMNs y algunas células NK. En el caso de los PMNs, este complejo se encuentra contenido en gránulos intracelulares, los cuales abandona para ir a atravesar la membrana celular únicamente en caso de activación.

La citometría de flujo ha sido ampliamente utilizada para evaluar la expresión de CD11b como marcador de la activación de PMNs [66,67,68,69,70,71].

De su parte, el antígeno CD16 es expresado en células NK, PMNs, macrófagos y algunos linfocitos. La forma transmembranal expresada por los leucocitos polimorfonucleados reconoce inmunoglobulinas tipo IgG mediando procesos de fagocitosis y citotoxicidad celular propios de una respuesta inmune. La adsorción de este tipo de inmunoglobulinas sobre las superficies artificiales, así como la importancia in vivo de este fenómeno dentro del desarrollo de una reacción de rechazo ante la presencia de un implante, han sido documentada en la literatura [47,51].

A esta altura de la prueba, no existen mayores elementos para juzgar si la reacción biológica estudiada es consecuencia directa de las características fisicoquímicas de cada superficie, o bien, producto de la liberación de ciertas sustancias de bajo peso molecular por parte de los materiales. Para esclarecer este interrogante proponemos lo siguiente:

- g) Conservar el medio de cultivo residual obtenido en la etapa e).
- h) Iniciar una nueva incubación de forma similar a la descrita en la etapa c), utilizando esta vez el medio de cultivo anteriormente recuperado, y sin incluir ningún material artificial.
- i) Repetir las etapas d, e, f.

De esta forma, el medio de cultivo recuperado contendrá cualquier sustancia de bajo peso molecular que haya podido ser liberada por el material bajo estudio, y será posible evaluar de manera independiente el efecto que tiene este fenómeno sobre el comportamiento de una población de células inmunocompetentes.

La puesta a punto de esta técnica experimental permitirá a mediano plazo validar, o en su defecto refutar, la siguiente hipótesis: "un material absolutamente inerte, es decir, aquel que no libera ninguna sustancia nociva al entrar en contacto con el medio fisiológico, y que satisface la condición de permanecer implantado bajo un estado de asepsia absoluta, es decir, que no es colonizado por

microorganismo patógeno alguno, no tiene ninguna capacidad, por sí mismo, de inducir una respuesta biológica negativa en el organismo receptor”.

Si esta hipótesis resultara ser verdadera, todos los esfuerzos de investigación que buscan modificar la composición química de los biomateriales con el ánimo de disminuir la intensidad de la respuesta biológica inducida, perderían cualquier fundamento conceptual. En este caso hipotético, la investigación en el área de los biomateriales daría un vuelco total y terminaría enfocándose al desarrollo de materiales “fisiológicamente inertes”, y a la búsqueda de estrategias que permitan garantizar una asepsia total en el sitio del implante.

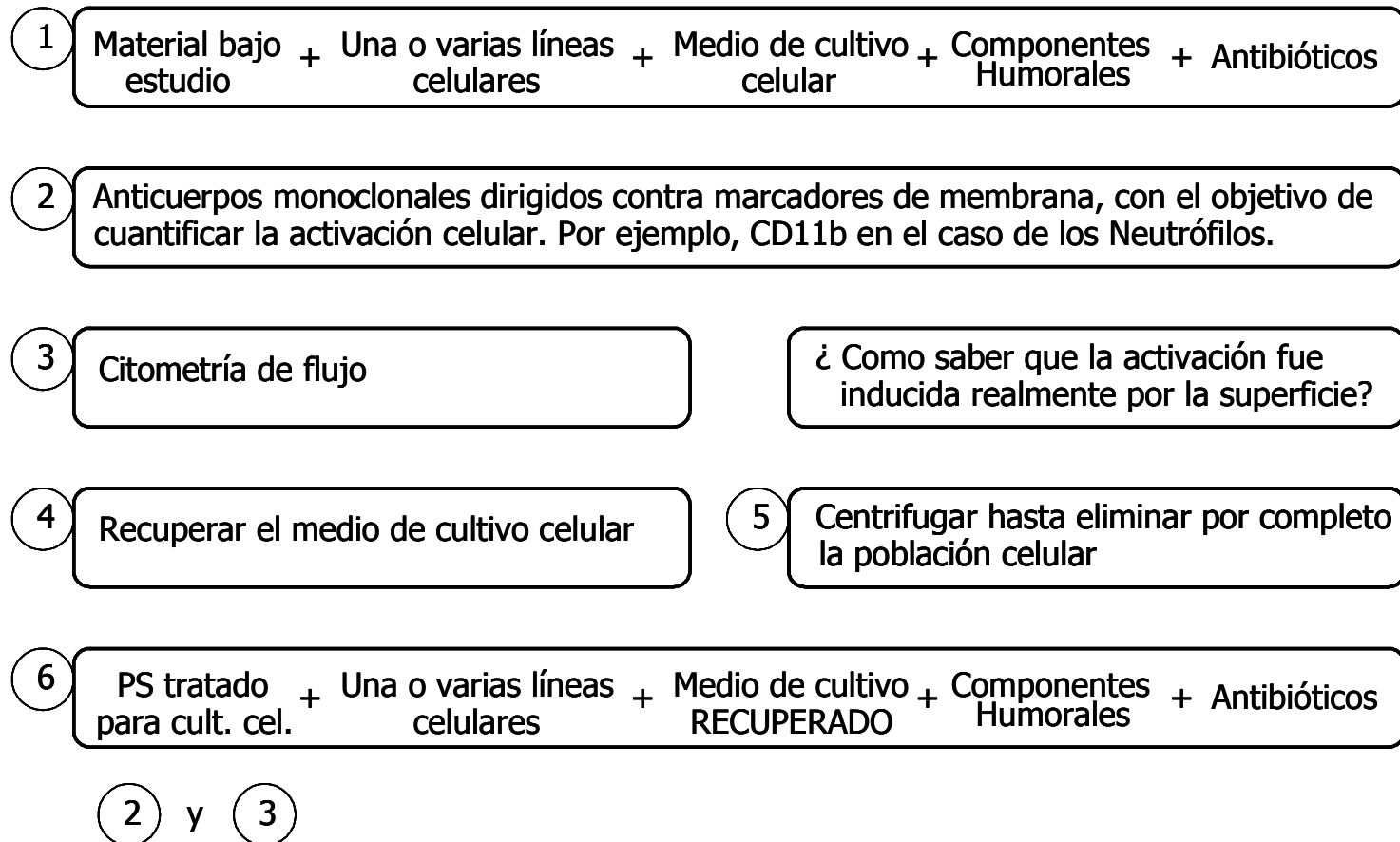


Figura 8. Síntesis del protocolo experimental propuesto para la evaluación de la biocompatibilidad de un biomaterial

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El desarrollo del presente proyecto de grado ha permitido explorar ideas originales en torno a tres aspectos fundamentales del diseño de biomateriales: i) la forma de representar y codificar la estructura química de un material; ii) la forma de representar y codificar una propiedad determinada; y iii) la forma como un algoritmo computacional puede llegar a correlacionar correctamente las dos primeras.

Es bien sabido que el éxito del modelamiento basado en redes neuronales depende en buena medida de la calidad de la base de datos que se utilice durante el proceso de entrenamiento, lo cual – hoy en día – depende fundamentalmente de la cantidad de dinero que se decida invertir. De otra parte, la forma específica como se implemente la red neuronal, es decir, como se desarrolle el algoritmo, es también esencial para obtener una buena correlación entre las variables analizadas. Afortunadamente, el segundo factor depende más de la creatividad que de los recursos económicos, y esa es precisamente la razón por la que se le ha dado prioridad en el desarrollo de este proyecto.

Desde el punto de vista de la biocompatibilidad, se ha propuesto una prueba *in vitro* 100% original potencialmente capaz de proveer información altamente representativa de este fenómeno, con el objetivo final de modelarlo computacionalmente. Adicionalmente, se ha propuesto, sobre bases conceptuales bastante sólidas, una hipótesis que marca una ruta alternativa en el análisis de la biocompatibilidad como fenómeno fundamental en el estudio de los dispositivos implantables en el cuerpo humano.

Finalmente, el desarrollo de esta tesis ha dado origen a un proyecto concreto de investigación titulado "Desarrollo de un Dispositivo Implantable para el Tratamiento de la Estenosis Benigna de Vías Biliares", en el cual esperamos empezar a trabajar próximamente.

REFERENCIAS

- [1] Macnair R., Underwood M., Angelini G. Biomaterials and cardiovascular devices. Proc Instn Mech Engrs Vol 212 Part H 1998.
- [2] Stein P., Alpert J., Copeland J. Antithrombotic therapy in patients with mechanical and biological prosthetic heart valves. Chest, 1992, 102, 445S–455S.
- [3] Courtney J., Zhao X., Qian H. Biomaterials in cardiopulmonary bypass. Perfusion 1999; 14: 263–267.
- [4] Gourlay T. Biomaterial development for cardiopulmonary bypass. Perfusion 2001; 16: 381–390.
- [5] Zhao X., Courtney JM. Influence on blood of plasticized polyvinyl chloride: significance of the plasticizer. Artif Organs. 1999 Jan;23(1):104-7.
- [6] Tickner J., Schettler T., Guidotti T., McCally M., Rossi M. Health risks posed by use of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review. Am J Ind Med 2001; 39: 100–11.
- [7] Gray L. Jr., Ostby J., Furr J., Price M., Veeramachaneni D., Parks L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. Toxicol Sci 2000; 58: 350–65.
- [8] Faouzi MA, Dine T, Gressire B. Exposure of hemodialysis patients to di-2-ethylhexyl pthalate. Int J Pharm 1999; 180: 113–21.
- [9] Stewart M. IV bags pose a patient risk. Am Nurse 1999; 31: 12.
- [10] Ratner B. New Ideas in Biomaterials Science – a Path to Engineered Biomaterials. Journal of Biomedical Materials Research. Vol. 27, 837-850. 1993.
- [11] Ideas are like children. Technology Review. January/February 1999.
- [12] Ragaller M., Werner C., Bleyl J., Adam S., Jacobasch H.J., Albrecht D.M. Blood compatible polymers in intensive care units: state of the art and current aspects of biomaterials research. Kidney International, Vol. 53, Suppl. 64 (1998), pp. S-84-S-90.
- [13] The virtual alchemists. Technology Review. July / August 1999.

- [14] Ratner B., Bryant S. Biomaterials: where we have been and where we are going. *Annu Rev Biomed Eng.* 2004; 6:41-75.
- [15] Langer R., Tirrell D.A. Designing materials for biology and medicine. *Nature.* 2004; Apr 1; 428(6982):487-92.
- [16] Colonna J., Shaked A., Gomes A., Colquhoun S., Jurim O., McDiarmid S., et al. Biliary strictures complicating liver transplantation: Incidence, pathogenesis, management, and outcome. *Ann Surg* 1992; 216:344-352.
- [17] Moser M., Wall W.J. Management of biliary problems after liver transplantation. *Liver Transplantation* 2001; Volume 7, Issue 11B, Pages s46 - s52
- [18] Roumilhac D., Poyet G., Sergent G., Declerck N., Karoui M., Mathurin P., Ernst O., Paris J.C., Gambiez L., Pruvot F.R. Long-term results of percutaneous management for anastomotic biliary stricture after orthotopic liver transplantation. *Liver Transplantation* 2003; Volume 9, Issue 4, Pages 394 – 400.
- [19] US Transplant – Scientific Registry of Transplant Recipients (www.ustransplant.org)
- [20] Presidencia de la República de Colombia (www.presidencia.gov.co)
- [21] Moore JH., Rodríguez S., Roa A., Girón M., Sanabria Á., Rodríguez P., Isaza A., García G. Colectomía laparoscópica ambulatoria: modelo de programa costo-eficiente de cirugía laparoscópica. *Revista Colombiana de Cirugía*; Volumen 19, No. 1, Enero - Marzo 2004, – Publicación Oficial de la Sociedad Colombiana de Cirugía.
- [22] NIH Consensus Development Program – National Institutes of Health (NIH) – U.S. Department of Health and Human Services (<http://consensus.nih.gov/>)
- [23] Consenso Nacional sobre Colectomía Laparoscópica (2000, mayo 25-26: Bogotá D.C.). Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Medicina. Departamento de Cirugía II. Pontificia Universidad Javeriana. – 1ª ed.- Bogotá, D.C.: Centro Editorial Javeriano. CEJA, 2000. 28 p. ISBN 958-683-276-7
- [24] Hofmann A.A., Bloebaum R.D., Bachus K.N. Progression of human bone ingrowth into porous-coated implants. Rate of bone ingrowth in humans. *Acta Orthop Scand.* 1997 Apr;68(2):161-6.
- [25] Shepperd J.A., Apthorp H. A contemporary snapshot of the use of hydroxyapatite coating in orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Br.* 2005 Aug;87(8):1046-9.

- [26] Fini M., Giavaresi G., Setti S., Martini L., Torricelli P., Giardino R. Current trends in the enhancement of biomaterial osteointegration: biophysical stimulation. *Int J Artif Organs*. 2004 Aug;27(8):681-90.
- [27] Best J.T. Revision total hip and total knee arthroplasty. *Orthop Nurs*. 2005 May-Jun;24(3):174-9; quiz 180-1.
- [28] Vidal J., Simon L. *Prótesis de Cadera y Rodilla*. Masson S.A. 1991.
- [29] Ordoñez J.M., Munuera L. *Artroplastia de Rodilla*. Editorial Medica Panamericana. 1998.
- [30] St. Jude Medical, Inc. (<http://www.sjm.com/>)
- [31] Garcia A.M., Bustamante J., Zapata J., Atehortua S.L., Bañol J.I., Barrera M.D., Guete J.C., Marin A.I. Detección de *Chlamydia pneumoniae* en válvulas aórticas y mitrales humanas. *Rev Fed Arg Cardiol* 2003; 32: 209-219. Instituto Cardiovascular de Investigaciones, Clínica Cardiovascular Santa María, Medellín, Colombia.
- [32] UWEB – University of Washington Engineered Biomaterials. (<http://www.uweb.engr.washington.edu/>)
- [33] Williams D. Definitions in Biomaterials. *Progress in Biomedical Engineering* 4, p 67. New York, 1987.
- [34] Olson G. Computational Design of Hierarchically Structured Materials. *Science*, Vol 277, 29 August 1997.
- [35] Merrett K., Cornelius R., McClung W., Unsworth L., Sheardown H. Surface analysis methods for characterizing polymeric biomaterials. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 13, No. 6, pp. 593–621 (2002).
- [36] Capra, F. *La trama de la vida: una nueva perspectiva de los sistemas vivos*. 2ª ed. Barcelona. Editorial Anagrama. 1999.
- [37] Rubin, I. *Handbook of plastic materials and technology*. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1990.
- [38] MatWeb – Material Property Data. Automation Creations, Inc. (ACI) / Blacksburg, Virginia. www.matweb.com
- [39] PlasticsUSA – Plastics Database. Eastpoint Oltean Co. www.plasticsusa.com
- [40] Boedeker Plastics, Inc. Texas, USA. www.boedeker.com
- [41] Polymer Technology and Services, LLC (PTS). Murfreesboro, TN, USA. www.ptslc.com
- [42] Professional Plastics. Fullerton, CA, USA. www.professionalplastics.com
- [43] Quadrant Engineering Plastic Products. www.quadrantepp.com

- [44] RTP Company. Winona, MN, USA. www.rtpcompany.com
- [45] FDM – Fiveash Data Management, Inc. Reference Spectra.
<http://www.fdmspectra.com/>
- [46] Lamba N., Baumgartner J., Cooper S. The influence of thrombus components in mediating bacterial adhesion to biomaterials. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 11, No. 11, pp. 1227–1237 (2000).
- [47] Rubens F. Cardiopulmonary bypass technology transfer: musings of a cardiac surgeon. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 13, No. 4, pp. 485–499 (2002).
- [48] McNally A., Anderson J. Complement C3 participation in monocyte adhesion to different surfaces. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 91, pp. 10119–10123, October 1994. Medical Sciences.
- [49] Tang L., Jennings T., Eaton J. Mast cells mediate acute inflammatory responses to implanted biomaterials. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 95, pp. 8841–8846, July 1998. Medical Sciences.
- [50] Ratner B. Blood compatibility 2000. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*. Vol. 11, No. 11, pp. 1105–1106 (2000).
- [51] Sefton M., Gemmell C., Gorbet M. What really is blood compatibility?. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 11, No. 11, pp. 1165–1182 (2000).
- [52] Lygre H. Prosthodontic biomaterials and adverse reactions: a critical review of the clinical and research literature. *Acta Odontol Scand* 60 (2002).
- [53] Ma N., Petit A., Yahia L., Huk O., Tabrizian M. Cytotoxic reaction and TNF- α response of macrophages to polyurethane particles. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 13, No. 3, pp. 257–272 (2002).
- [54] Risbud M., Hambir S., Jog J., Bhonde R. *J. Biomater. Biocompatibility assessment of polytetrafluoroethylene / wollastonite composites using endothelial cells and macrophages. Sci. Polymer Edn*, Vol. 12, No. 11, pp. 1177–1189 (2001).
- [55] Lewandowska-Szumiel M., Komender J. Interaction between tissues and implantable materials. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 10, No. 2, pp. 79–82 (2000).
- [56] Kirkpatrick C., Bittinger F., Wagner M., Kohler H., van Kooten T., Klein C., Otto M. Current trends in biocompatibility testing. *Proc Instn Mech Engrs Vol 212 Part H. IMechE* 1998. Review Paper.

- [57] Brodbeck W.G., Patel J., Voskerician G., Christenson E., Shive M.S., Nakayama Y., Matsuda T., Ziats N.P., Anderson J.M. Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo. PNAS August 6, 2002 vol. 99 no. 16 10287–10292. Edited by Robert Langer, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA.
- [58] Balasubramanian V., Slack S.M. The effect of fluid shear and co-adsorbed proteins on the stability of immobilized fibrinogen and subsequent platelet interactions. J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 13, No. 5, pp. 543–561 (2002).
- [59] Hatchcock J.J., Hall C.L., Turitto V.T. Active tissue factor shed from human arterial smooth muscle cells adheres to artificial surfaces. J. Biomater. Sci. Polymer Edn, Vol. 11, No. 11, pp. 1211–1225 (2002).
- [60] Schenck K., Kiyono H., Helgeland K., Steinsvoll S., Taylor B. Immunological tolerance: the good, the bad, and the ugly. Acta Odontol Scand 59 (2001). Proceedings of the conference 'New Frontiers in Oral Immunological Diseases', Lillehammer, Norway, 2001. Part 3.
- [61] Dasgupta M.K. Exit-site and catheter-related infections in peritoneal dialysis: problems and progress. Nephrology 2000; 5, 17-25.
- [62] Nilsson B., Larsson R., Hong J., Elgue G., Ekdahl K.N., Sahu A., Lambris J.D. Compstatin Inhibits Complement and Cellular Activation in Whole Blood in Two Models of Extracorporeal Circulation. Blood, Vol. 92 No. 5 (September 1), 1998: pp. 1661-1667.
- [63] Eriksson C., Nygren H. Adhesion receptors of polymorphonuclear granulocytes on titanium in contact with whole blood. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, Volume 137, Issue 1, January 2001, Pages 56-63.
- [64] Garred P., Mollnes T.E. Immobilized heparin inhibits the increase in leukocyte surface expression of adhesion molecules. Artif Organs. 1997 Apr;21(4):293-9.
- [65] Larsson R., Elgue G., Larsson A., Ekdahl K.N., Nilsson U.R., Nilsson B. Inhibition of complement activation by soluble recombinant CR1 under conditions resembling those in a cardiopulmonary circuit: reduced up-regulation of CD11b and complete abrogation of binding of PMNs to the biomaterial surface. Immunopharmacology. 1997 Dec;38(1-2):119-27.

- [66] Barbosa J.N., Madureira P., Barbosa M.A., Águas A.P. The attraction of Mac-1 phagocytes during acute inflammation by methyl-coated self-assembled monolayers. *Biomaterials*, Volume 26, Issue 16 , June 2005, Pages 3021-3027.
- [67] Hernandez M.R., Galan A.M., Cases A., Lopez-Pedret J., Pereira A., Tonda R., Bozzo J., Escolar G., Ordinas A. Biocompatibility of Cellulosic and Synthetic Membranes Assessed by Leukocyte Activation. *American Journal of Nephrology* 2004;24:235-241.
- [68] Lappegard K.T., Fung M., Bergseth G., Riesenfeld J., Lambris J., Videm V., Mollnes T.E. Effect of complement inhibition and heparin coating on artificial surface-induced leukocyte and platelet activation. *The Annals of Thoracic Surgery* Volume 77, Issue 3 , March 2004, Pages 932-941.
- [69] Nguyena K.T., Su S.H., Sheng A., Wawro D., Schwade N.D., Brouse C.F., Greulich P.E., Tang L., Eberhart R.C. In vitro hemocompatibility studies of drug-loaded poly-(l-lactic acid) fibers. *Biomaterials*, Volume 24, Issue 28 , December 2003, Pages 5191-5201.
- [70] Gourlay T., Stefanou D.C., Asimakopoulos G., Taylor K. The Effect of Circuit Surface Area on CD11b(mac-1) Expression in a Rat Recirculation Model. *Artificial Organs*, Volume 25, Issue 6, Page 475, June 2001.
- [71] Gemmell C.H. Flow cytometric evaluation of material-induced platelet and complement activation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 10 December 2000, vol. 11, no. 11, pp. 1197-1210(14).