

BIODOMO: UN INTENTO DE LA CIENCIA POR RECUPERAR LAS EXTREMIDADES PERDIDAS

BioDome, An attempt by science to recover lost extremities

1 **Arteaga Marcio Antonio.**

1 Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Carrera Bioquímica. Universitario

Recepción: 20 de octubre 2017
Aceptado: 15 de noviembre 2017

RESUMEN

Investigaciones anteriores sobre la regeneración de las extremidades de los vertebrados indican que hay varios factores mediadores involucrados durante el proceso de re-crecimiento. Pese a que el fenómeno de regeneración no se da naturalmente en los mamíferos, este puede promoverse artificialmente; el BioDome está proyectado a ser una nueva herramienta experimental para permitir el estudio más sistemático del impacto de factores biofísicos y bioquímicos en la regeneración de tejidos de mamíferos y posteriormente desarrollarse como una maquinaria que promueva la regeneración de grandes áreas de tejido humano.

PALABRAS CLAVE:

BioDome, regeneración de tejidos, ingeniería biomédica

SUMMARY

Previous research on regeneration of vertebrate extremities indicates that several mediating factors are involved during the re-growth process. Although the phenomenon of regeneration does not occur naturally in mammals, it can be promoted artificially; The BioDome is projected to be a new experimental tool to allow a more systematic study of the impact of biophysical and biochemical factors on the regeneration of mammalian tissues and later develop as a machinery that promotes the regeneration of large areas of human tissue.

KEYWORDS:

BioDome, tissue regeneration, biomedical engineering

INTRODUCCIÓN

Cuánta razón tenía Charles Darwin al enunciar: “La inteligencia está basada en lo eficiente que las especies se vuelven al hacer las cosas que necesitan para sobrevivir”, y lo que permitió a la especie humana volverse tan eficiente en sus actividades es la evolución que sufrieron sus extremidades tanto superiores como inferiores. “(...) estos monos se fueron acostumbrando a prescindir de las manos al caminar por el suelo y empezaron a adoptar más y más una posición erecta. Fue el paso decisivo para el tránsito del mono al hombre. Y puesto que la posición erecta había de ser para nuestros peludos antepasados primero una norma, y luego, una necesidad, de aquí se desprende que por aquel entonces las manos tenían que ejecutar funciones cada vez más variadas”¹. De esta forma la mano se convirtió en una de las partes más importantes del cuerpo. “Después del cerebro, la mano es el tesoro más grande del hombre (...).Las ideas están ligadas a las sensaciones y acciones de las manos no solo en las actividades fundamentales concernientes

a protección, comida, combate y perpetuación, sino en la creación, tal como construir, dibujar, modelar y hasta pensar. Es sorprendente (...) el enorme papel de la mano en el proceso de evolución de las especies hasta la civilización humana”².

PROBLEMA

Desde tiempos remotos, han existido accidentes que traen como consecuencia la pérdida de alguno de estos miembros, entonces una de las prioridades de la medicina es la de mantener a nuestro cuerpo íntegro y funcional; sin embargo pese a los avances tecnológicos actuales poco se ha podido hacer para remediar una de estas pérdidas, si bien se han logrado construir prótesis muy avanzadas, estas son muy caras y no satisfacen las necesidades de los usuarios pues “no hay nada más fascinante en su funcionamiento ni más maravilloso en su mecanismo que el cuerpo humano”³.

OBJETIVO DEL ARTÍCULO

El presente artículo tiene como finalidad dar a conocer uno de los avances más novedosos que tuvo la MEDICINA REGENERATIVA gracias a la importante colaboración que recibió por parte de la INGENIERÍA BIOMÉDICA en la invención del "BIODOMO, aparato construido y probado en numerosos experimentos por científicos de la universidad de Tufts-Boston-EEUU; este aparato tiene la finalidad de estimular bioquímicamente y biofísicamente una determinada área del cuerpo con el fin de fomentar la regeneración de tejidos"⁴; dicha regeneración no se refiere al proceso de cicatrización de una herida, sino más bien a una regeneración total o al menos parcial del miembro perdido; si bien estos dos procesos son similares en muchos aspectos, resultan en productos totalmente diferentes. "Durante el curso de la cicatrización normal de las heridas, muchas estructuras biológicas complejas, como las glándulas sudoríparas, los conductos y los folículos pilosos, no pueden reconstruirse, ya que no está disponible la maquinaria biológica para hacerlo. En una herida típica de piel de mamífero adulto, estas estructuras no se regeneran ya que el desarrollo de estos tejidos y órganos requiere que se produzcan procesos altamente específicos"⁵. "El cierre normal de heridas y la formación de cicatrices no proporcionan un ambiente adecuado para que estas estructuras se regeneren"⁶.

MARCO TEÓRICO

Lo que hay que saber sobre regeneración

Entonces para diferenciar a la cicatrización de la regeneración, definiremos a esta última como la sustitución del tejido perdido por otro igual que CONSERVA LA ESTRUCTURA Y FUNCIONALIDAD DEL ORIGINAL; a su vez, existen diferentes tipos de regeneración, "Clásicamente, se ha considerado que la regeneración puede deberse a dos mecanismos distintos, la morfalaxis y la epimorfosis. Denominamos epimorfosis a la restauración morfológica y funcional de una estructura anatómica perdida en un organismo adulto mediante la formación de un blastema (Figura 1, A). Por otro lado, el término morfalaxis implica un drástico remodelado de los tejidos preexistentes de forma que parte de los viejos tejidos se transforman en aquellos que se han perdido. Se forma así, un organismo completo sin que exista un proceso proliferativo, es decir, sin la formación de un blastema propiamente dicho en el fragmento no dañado (Figura 1, B). (...) La clave para diferenciar ambos procesos es, por tanto, la existencia del blastema, concepto directamente relacionado con una proliferación celular activa. Po-

demostramos definir blastema como una masa de células indiferenciadas y proliferantes que darán lugar a todos los tejidos de la estructura a regenerar. Generalmente, resulta fácil de identificar por ser un tejido no pigmentado que se forma bajo el epitelio que cubre la herida e identificándose en cortes histológicos por la presencia mayoritaria de estas células de morfología indiferenciada y con alta tasa de división. En la actualidad se estima que ambos procesos pueden estar presentes en diferentes casos de regeneración de un mismo organismo o incluso combinarse, como en el caso del modelo de «regeneración intercalar» (Figura 1, C)⁷.

Figura 1. Regeneración Intercalar.

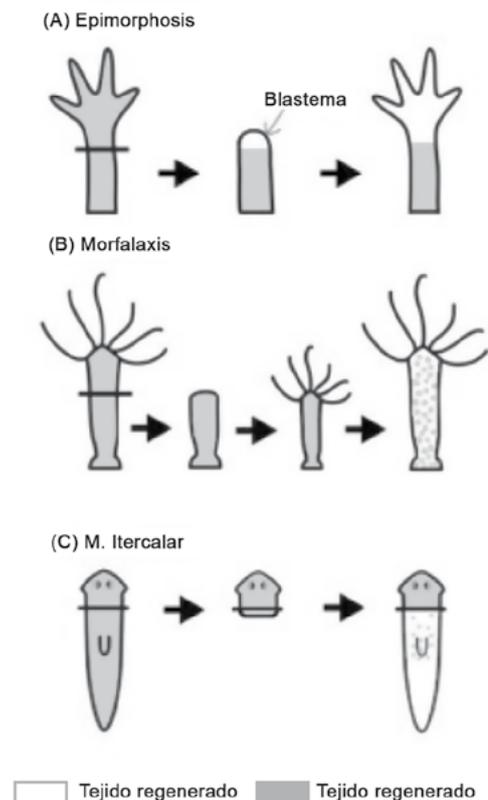


Figura 1: Modelos de regeneración:
A. - Epimorfica B. - Morfalaxis
C. - Modelo Intercalar

Habiendo conocido los tipos de regeneración existentes, desde ahora se hablará acerca de la regeneración epimórfica ya que, el BIODOMO fue diseñado para promover este tipo de regeneración. "Generalmente, hay tres requisitos para que cualquier sistema muestre regeneración epimórfica. El sistema debe contener primero células mitoticamente activas y, segundo,

liberar señales para promover la proliferación de esas células. En tercer lugar, el sistema debe estar libre de factores que puedan inhibir una respuesta regenerativa. Estos pueden incluir un ambiente externo seco, infección bacteriana, o un proceso de curación de heridas abrumadoramente eficiente que repara la herida mediante reemplazo de tejido cicatricial antes de que pueda comenzar una cascada de regeneración⁸.

Mecanismo de cicatrización de una herida en mamíferos

Dentro de los primeros minutos después de cualquier herida epidérmica de mamífero, un coágulo de fibrina llena el área de defecto y una de sus funciones es la de "actuar como matriz a través de la cual pueden viajar las células migratorias, como las células inmunitarias o epiteliales"⁹. En el caso de formación de tejido de granulación, a partir de una herida de piel seca por ejemplo, la reepitelización ocurre por migración de las células epidérmicas adyacentes por debajo del coágulo de fibrina. A medida que la capa reepitelizada se desarrolla en respuesta a factores de crecimiento y otras moléculas de señal expresadas en el coágulo de fibrina, las células migratorias utilizan enzimas para digerir la capa sótano del coágulo, que eventualmente se desprende y se separa del nuevo epitelio. "Sin embargo, en las heridas húmedas, la reepitelización se acelera y puede ocurrir directamente sobre la superficie de la herida sin formación de tejido de granulación"¹⁰. El tejido cicatricial resultante presente al final del proceso de cicatrización de la herida está indicado principalmente por una red de fibras colágenas densamente organizada parcialmente que carece de la función y características completas del tejido original.

Estudios previos han demostrado que la formación del epitelio de la herida es un paso necesario para permitir la regeneración. Como ejemplo, el cierre forzado de la herida al coser una solapa de la piel sobre la punta de un dedo humano amputado detiene la regeneración. "Permitir que los dígitos lesionados se reepitelicen por sí mismos en un vendaje de heridas húmedo promueve la regeneración completa de las puntas de los dedos humanos de los niños"¹¹.

Mecanismo de regeneración epimórfica en un anfibio

"Una observación del comportamiento del sitio de amputación en sistemas de modelos de vertebrados es una desdiferenciación masiva de células locales cerca del sitio de la herida"¹². Una vez desdiferenciada, esta masa de células forma un blastema en especies regenerativas tales como los urodeles y ranas juveniles. Esta masa reside justo debajo de la superficie

del epitelio de la herida. El blastema es el sitio activo para el miembro regenerador, y es un requisito para la regeneración exitosa en todos los modelos de anfibios. Las células se diferencian del blastema para formar todos los tejidos constitutivos de la nueva extremidad, desde el hueso nuevo hasta la nueva piel y músculo, entre otros.

El papel del BioDomo en la regeneración mamífera

En el momento de la amputación se generan respuestas bioquímicas y biofísicas en el cuerpo del afectado, los más importantes para este estudio son los fenómenos bioeléctricos uno de los cuales es: "La presencia del campo eléctrico longitudinal, el cual impulsa una corriente interna desde el muñón de la herida y proporciona señales de guía para la invasión y la migración de varios tipos de células cerca del sitio de la herida"¹². Si bien estos fenómenos biofísicos existen en una respuesta normal de curación de heridas, su presencia es significativamente más profunda en el proceso de regeneración.

Por tanto la estimulación eléctrica incorporada en este proyecto pretende imitar los procesos biofísicos de regeneración de miembros que se han observado en especies vertebradas espontáneamente regenerativas. "Estudios previos han demostrado que la estimulación eléctrica artificial aplicada en una amputación de extremidades en ranas adultas y modelos de rata puede mejorar significativamente la evidencia de regeneración"¹³, "ya que estas corrientes eléctricas causan despolarización en el potencial celular transmembrana, estimulando a las células locales a desdiferenciarse o entrar en un estado altamente mitótico"¹⁴.

Este dispositivo además tiene la finalidad de facilitar la administración cocteles bioquímicos que tienen la función de actuar como un andamiaje físico para el crecimiento celular; "dichos cócteles líquidos poseen un alto contenido de matriz extracelular que fue obtenida de una vejiga urinaria porcina y posteriormente sometida a un proceso de descelularización enzimática mediada por pepsina"¹⁵. (Este procedimiento es bastante conocido en las áreas de ingeniería de tejidos y medicina regenerativa).

De esta manera el BioDomo logra que se cumplan las tres condiciones necesarias para que se desencadene el proceso de regeneración: en primer lugar facilita la aparición de células mitóticamente activas a través de la administración de los cócteles bioquímicos, en segundo lugar libera señales a modo de impulsos eléctricos los cuales promueven la prolife-

ración de estas células y en tercer lugar provee un ambiente húmedo y controlado en el cual se pueden aislar factores que inhiban la respuesta regenerativa.

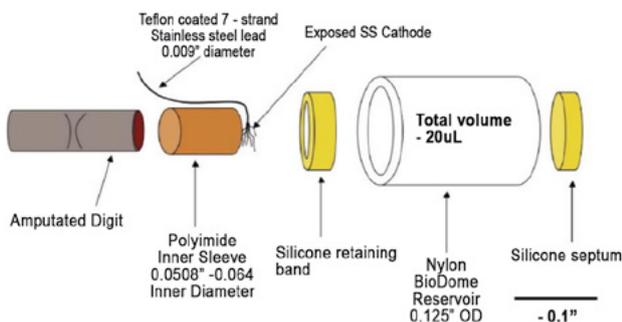
MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una revisión bibliográfica en Bibliotecas Virtuales en Salud, Scielo, PubMed.

Diseño

Fue diseñado un prototipo de dispositivo BioDomo con la finalidad de experimentar con dígitos murinos amputados; este dispositivo tiene los siguientes componentes: un manguito interno de poliamida, un tabique de silicona, una banda de retención, un cuerpo de depósito de nylon, un cátodo de acero inoxidable, un ánodo de acero inoxidable implantable temporal en conjunción con una fuente externa de corriente constante que se utiliza para suministrar corriente a través de la herida.

Figura 2.



Fuente: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2967604/>

El acero inoxidable se elige como el material preferido para el cátodo puesto que el alambre se fabrica con múltiples hebras que pueden ser manipuladas fácilmente para formar un electrodo en forma de abanico. Además, la oxidación del metal en el cátodo no es de gran preocupación durante las breves sesiones de estimulación eléctrica. (La configuración en forma de abanico del cátodo maximiza el área de contacto con el sitio de amputación).

Este prototipo fue diseñado para permanecer correctamente fijado a la punta del dígito y entregar tratamientos de hasta 6 días para facilitar el inicio de una cascada de regeneración. El tiempo de adhesión del BioDomo fue diseñado por dos razones principales. En primer lugar, se preveía que los BioDomos que permanecían adheridos al dígito durante más de

6 días tenían el potencial de causar efectos negativos tales como irritación, inflamación o necrosis severa de dígitos. En segundo lugar, después que la reepitelización ocurre, pocas moléculas pueden acceder al sitio de la herida, y la presencia del tratamiento de fluido externo no causaría ningún progreso adicional.

Experimentación

- Para este experimento se utilizaron 12 ratones machos de entre 6 a 8 semanas de edad.
- Se sedaron a los ratones para la operación.
- La amputación de los dígitos se realizó en la línea media de la segunda falange del dígito medio posterior derecho con tijeras óseas extrafinas.
- El tratamiento con el cóctel bioquímico se administró perforando el tabique distal de silicona del BioDomo con una de jeringa hipodérmica.
- La estimulación eléctrica se administró mientras los animales estaban sedados. Inmediatamente antes de la estimulación eléctrica, el ánodo se insertó subcutáneamente en un ángulo para asegurar que no perforara la capa muscular y el cátodo de acero inoxidable fue construido en el depósito del BioDomo. Por definición, la corriente eléctrica fluye desde el ánodo hacia el cátodo.
- Después de ajustar la fuente de alimentación para suministrar la corriente adecuada (6,4 microAmperios), el ratón se conectó eléctricamente a la fuente de alimentación y se estimuló durante 15 minutos. Esta estimulación se llevó a cabo en los días 0,1 y 3 después de la operación.
- Después de la estimulación eléctrica, el ánodo fue retirado rápidamente y desechado, y el ratón fue reubicado desde el área quirúrgica hasta el área de estimulación caliente para su recuperación.
- El día 14 se aplicó eutanasia a los ratones para estudiar la evolución de cada uno de ellos.

Figura 3.



Fuente: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2967604/>

RESULTADOS

Los dispositivos BioDomo fueron bien tolerados por los animales de ensayo y cumplieron con sus especificaciones de diseño manteniendo un ambiente controlado del sitio de la herida. Como era de esperar, los dispositivos permanecieron unidos a los dígitos durante hasta 6 días para proporcionar una exposición adecuada del sitio de la herida a los factores estimulantes proporcionados, evitando al mismo tiempo los efectos negativos de la constricción de dígitos y la necrosis. Estos son los resultados observados el día 14:

Dígito no tratado

- (-) BioDomo
- (-) estimulación eléctrica
- (-) tratamiento farmacológico

Las imágenes histológicas de estudios de amputación realizados por el equipo de BioDomo muestran la respuesta de curación normal al día 14 para los ratones que no reciben ningún tratamiento o vendaje de herida inmediatamente después de la amputación de los dígitos, muestra una respuesta típica de cicatrización de heridas como se indica por un epitelio muy fino de la herida, una deposición significativa de colágeno en forma de tejido cicatricial, la presencia de grandes células eosinofílicas mononucleares (CEPM), linfocitos y ninguna evidencia de remodelación ósea avanzada.

Sólo BioDomo

- (+) BioDomo
- (-) tratamiento farmacológico
- (-) estimulación eléctrica

Este tratamiento BioDomo muestra poca evidencia de re-crecimiento constructivo avanzado como se indica por el epitelio de la herida delgada y la organización débil de los CEPM.

Sólo BioDomo y Estimulación Eléctrica

- (+) BioDomo
- (-) tratamiento farmacológico
- (+) Estimulación eléctrica: 6,4 uA durante 15 minutos en los días 0, 1 y 3

Este sujeto muestra evidencia de re-crecimiento constructivo avanzado como se indica por un epitelio de herida gruesa y alto grado de organización de CEPM incluyendo una región que muestra el desarrollo de una estructura de tipo laguna adyacente al hueso original.

BioDomo, Estimulación Eléctrica y cóctel bioquímico

- (+) BioDomo
- (+) Tratamiento farmacológico
- (+) Estimulación eléctrica: 6,4 uA durante 15 minutos en los días 0, 1 y 3

Los ratones que recibieron el tratamiento completo demostraron epitelio de la herida más gruesa, grandes áreas de nueva deposición de colágeno y remodelación ósea con lagunas, y la fuerte presencia de grandes células eosinofílicas mononucleares y folículos pilosos.

DISCUSIÓN

El objetivo principal de este proyecto era desarrollar un dispositivo que pudiera controlar las condiciones microambientales seleccionadas en el sitio de la herida en un modelo de ratón de amputación de dígito parcial. Las investigaciones sobre este asunto son cada vez más importantes debido al creciente número de pérdidas de miembros y otros traumas que están afectando a las personas debido a accidentes. Los materiales y la configuración del dispositivo fueron elegidos para minimizar el daño potencial causado por el roer, rascarse, el movimiento normal y la exposición al ambiente de la vivienda del roedor.

Aunque los dispositivos de estudios previos han sido desarrollados para suministrar estimulación eléctrica o un tratamiento farmacológico, el BioDomo logra ambos manteniendo un perfil bajo y facilita un procedimiento de instalación quirúrgica relativamente simple que tarda aproximadamente 5-10 minutos en completarse. La fabricación del dispositivo se realiza a mano y la esterilización se realiza utilizando gas de óxido de etileno para tener en cuenta la delicada naturaleza plástica de los componentes del sistema. El uso de las agujas de acupuntura de acero inoxidable como el ánodo fue un eficaz y eficiente medio de configuración de electrodos.

A través de los experimentos realizados se pudo comprobar la veracidad de la hipótesis formulada sin embargo aún existen fallas en el diseño, como por ejemplo: varios de los dispositivos BioDomo tienden a pincharse o desacomodarse como resultado de la deambulación normal del individuo.

Hasta este punto es donde llegó el informe de los científicos que realizaron los experimentos y aunque todo esto ocurrió en el año 2010, no se pudo encontrar información sobre investigaciones posteriores a cerca del mismo tópico, tal vez porque este proyecto

fue financiado por la Agencia de Proyectos de Investigación Avanzada de Defensa (DARPA) del gobierno de los Estados Unidos; y es bien conocido el alto nivel de secretismo que exige esta agencia en cuanto a las investigaciones que realiza.

No obstante considero que después de perfeccionar el diseño del dispositivo, se debería experimentar con prototipos de más grande tamaño buscando la regeneración ya no de un dígito, sino de una pata murina completa. Así de esta forma en un futuro no muy lejano se podría crear una maquinaria biomédica capaz de incentivar la regeneración de partes humanas.

A través de investigaciones como esta, nos damos cuenta que no existe más grande perfección que la de la naturaleza ni mejor diseño funcional que la de los seres que la habitamos.

¿Alguna vez llegará el día en que los humanos podamos descifrar todo este conocimiento?

NOTA ACLARATORIA

El artículo aquí presente nació de la necesidad de dar a conocer esta importante investigación, por tanto pretendía ser un resumen traducido al español del artículo original en inglés llamado: **“BioDome Regenerative Sleeve for Biochemical and Biophysical Stimulation of Tissue Regeneration”**¹⁶ pero, debido a que se necesita tener un conocimiento básico previo sobre ciertos términos y procedimientos en áreas afines a la medicina para poder entender dicho artículo, se decidió complementar este conocimiento con la información proveniente de otros autores, transformándose de esta manera en un artículo de revisión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Engels F. Obras Escogidas de Carlos Marx y Federico Engels en Tres Tomos. Moscú: Editorial Progreso; 1981.
- Dr. Monreal RJ. 1. La mano, origen, evolución y su papel en la sociedad. [Online]. Available from: http://www.bvs.sld.cu/revistas/ort/vol21_2_07/ort01207.htm [Accessed 10 February 2017].
- Incredible Human Machine. National Geographic Channel. 2012.
- Curiosidad. ¿Podemos vivir para siempre?. Discovery Channel. 2012.
- Hechavarria D et al. 1. BioDome Regenerative Sleeve for Biochemical and Biophysical Stimulation of Tissue Regeneration. [Online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2967604/> [Accessed 10 February 2017].
- Brockes JP et al. Amphibian Limb Regeneration: Rebuilding a Complex Structure. Science. 2016; 276(?): 81-87.
- Duran I. Modelos de Regeneración. Encuentros en la Biología. 2009;2(122): 3-4.
- Stocum DM. Regenerative Biology and Medicine. New York: Elsevier Inc; 2006.
- Martin P. Wound Healing—Aiming of Perfect Skin Regeneration. Science. 1997; 276 :75–81
- Carlson BM. Principles of Regenerative Biology. New York: Elsevier Inc; 2007.
- Illingworth CM. Trapper fingers and amputated finger tips in children. Journal of Pediatric Surgery. 1974; 9 :853–858.
- Pritchard JJ, Ruzicka AJ. Comparison of fracture repair in the frog, lizard and rat. Journal of Anatomy. 1950; 84 :236–261.
- Sisken BF. Response of Amputated Rat Limbs to Fetal Nerve Tissue Implants and Direct Current. Journal of Orthopaedic Research. 1984; 2 :177–189.
- Cone CD. Control of Somatic Cell Mitosis by Simulated Changes in the Transmembrane Potential Level. Oncology. 1971; 25 :168–182.
- Badylak SF. Xenogeneic extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. Transplant Immunology. 2004; 12 :367–377.
- Dewilde A et al. 1. PubMed Central (PMC). [Online]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2967604/> [Accessed 24 February 2017].