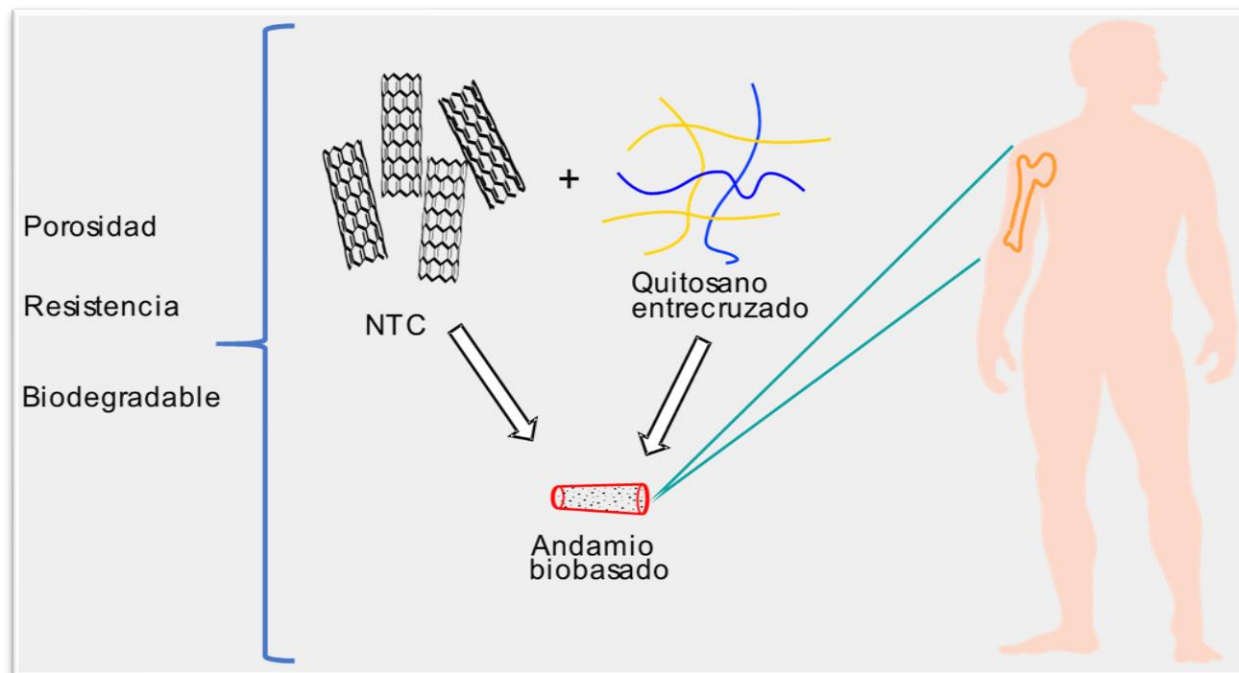


Andamios biobasados de quitosano para aplicación en Ingeniería de tejidos

Biobased chitosan scaffolds for application in tissue engineering



José J. Cedillo-Portillo^a, Adali O. Castañeda-Facio^a, Sandra C. Esparza-González^b, Rosa Idalia Narro-Céspedes^a, Elia Martha Muzquiz-Ramos^a, Aidé Sáenz-Galindo^{a*}

^a Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés. C.P. 25280, Saltillo Coahuila, México.

^b Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Odontología, Ave. Doctora Cuquita Cepeda de Dávila sin número. Col. Adolfo López Mateos. C.P. 25125, Saltillo Coahuila, México.

Correspondencia para autor: José Juan Cedillo Portillo
Universidad Autónoma de Coahuila
Correo: juan_cedillo_portillo@uadec.edu.mx

Resumen

En la actualidad el uso de materiales a base de biopolímeros ha tomado una importancia considerable debido a la biocompatibilidad y biodegradabilidad que algunos de estos presentan, por lo que diversos autores han reportado estudios sobre biopolímeros como: el ácido poli-L-láctico (PLLA), policaprolactona (PCL), poliuretanos (PU) y quitosano (Q) con aplicaciones en áreas, como: biomédica, resaltando estos tipos materiales como buenos candidatos para aplicaciones en ingeniería de tejidos. Entre los polímeros biobasados que más se han estudiado es el quitosano debido a que es un polímero biocompatible y biodegradable, sin embargo, la limitante para este y otros polímeros naturales es su baja estabilidad mecánica, por lo cual algunos autores han recurrido al entrecruzamiento como un proceso para modificar la matriz polimérica y mejorar sus propiedades mecánicas, así mismo, como a la integración de nanoestructuras o nanopartículas, es por lo anterior que la finalidad de la presente revisión bibliográfica aborda un panorama sobre biopolímeros biobasados como el quitosano y la incorporación de nanoestructuras de carbono y de nanopartículas inorgánicas, así como, la importancia del agente de entrecruzamiento, para potencializar la implementación de este tipo de compuestos, en la ingeniería de tejidos.

Palabras Claves: Biopolímeros, NTCPM, Nanopartículas inorgánicas, Quitosano.

Abstract

Currently, the use of materials based on biopolymers has taken on considerable importance due to the biocompatibility and biodegradability that some of these present, for which several authors have used biopolymers such as: poly-L-lactic acid (PLLA), polycaprolactone (PCL), polyurethanes (PU) and chitosan (Ch) for applications in various areas, including biomedical, highlighting these types of materials as good candidates for applications in tissue engineering. Among the biobased polymers that have been studied the most is chitosan because it is a biocompatible and biodegradable polymer, however, the limitation for this and other natural polymers is its low mechanical stability, for which some authors have resorted to crosslinking as a process to modify the polymeric matrix and improve its mechanical properties, likewise, as well as the integration of nanostructures or nanoparticles, it is for this reason that the

purpose of this bibliographic review addresses an overview of bio-based biopolymers such as chitosan and the incorporation of nanostructures of carbon and inorganic nanoparticles, as well as, the importance of the crosslinking agent, to potentiate the implementation of this type of compounds, in tissue engineering.

Key words: Biopolymers, MWCNT, Inorganic nanoparticles, Chitosan.

Introducción

Cada año un gran número de personas requieren remplazos óseos por defectos esqueléticos causados por accidentes o enfermedades que no son capaces de sanar por sí solas. En los últimos años, la ingeniería de tejidos se ha enfocado recientemente en el remplazo y la reparación de tejidos dañados o defectuosos en el cuerpo humano. Ingeniería de tejidos o medicina regenerativa, es la rama de la bioingeniería que se enfoca en combinar células y métodos de la ingeniería de materiales para mejorar o remplazar funciones biológicas en el cuerpo humano (Eivazzadeh-Keihan y col., 2019), ingeniería de tejidos es un campo de la bioingeniería donde diferentes ramas de las ciencias interactúan como con: la química, la física, la medicina, ingeniería y biología. Recientemente la mayoría de las investigaciones se han centrado en andamios a base de materiales biobasados, que son estructuras que actúan como plataformas de anclaje y adhesión para las células, de esta manera, deben de tener un diseño idóneo como una porosidad interconectada, un tamaño y dureza dependiendo de la aplicación, para promover el crecimiento óptimo de las células. (Perez-Puyana y col., 2020a). En la Figura 1. Se presenta una imagen de un andamio biobasado.

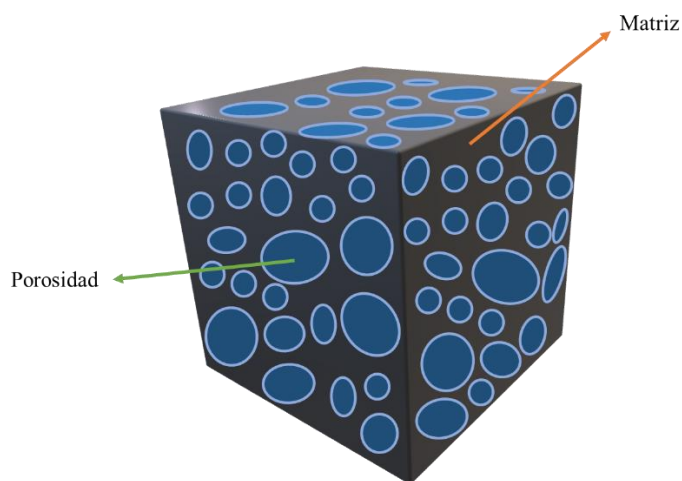


Figura 1. Imagen de un andamio a base de un polímero biobasado.

El tejido óseo es conocido por su capacidad de autocuración el cual consta de tres etapas, siendo estas inflamación, producción de hueso y remodelación de hueso, no obstante, los defectos óseos a gran escala no pueden ser sanados completamente por el cuerpo, por lo cual es necesario un tratamiento externo para la restauración de las funciones normales del hueso, por consiguiente, se están investigando nuevos biomateriales y nuevas técnicas de andamiaje (Moreno y col., 2019). Estos andamios o plantillas proporcionan un microambiente en donde las células se adhieren, crecen, se diferencian y migran, es importante que los andamios no generen ninguna respuesta inmune durante su administración, así mismo, deben ser biodegradables o bioreabsorbibles para facilitar la formación del tejido (Dave y Gomes, 2019).

Se han buscado diversos tipos de biomateriales, los cuales puedan ser utilizados en este tipo de aplicaciones, con diversas matrices: metálicas, cerámicas y poliméricas. Según la Sociedad Europea de Biomateriales (ESB) por sus siglas en inglés, un biomaterial se describe como un material que interactúa con un sistema biológico para diagnóstico, tratamiento o reemplazar cualquier tejido u órgano o función del cuerpo. Entre los diferentes tipos de materiales, los biomateriales poliméricos destacan por presentar propiedades únicas como la preparación controlable, procesamiento fácil y la versatilidad, siendo utilizados en diversas áreas donde se

destacan, ingeniería de tejidos y el acarreamiento de fármacos (Zou y col., 2018). El objetivo de esta revisión bibliográfica es describir algunas de las principales propiedades y aplicaciones del quitosano y la integración de nanoestructuras a base de carbono, así como de nanopartículas inorgánicas para la aplicación de este tipo de materiales biobasados en la ingeniería de tejidos.

Andamios a base de quitosano para ingeniería de tejidos

En el 2020 las opciones más utilizadas son los polímeros sintéticos aunque las opciones más atractivas son los polímeros naturales o también llamados biobasados (Dong y col., 2020), debido a que al menos una parte de su estructura química provienen de fuentes naturales pudiendo ser o no biodegradable, el quitosano es un polisacárido natural ampliamente utilizado por si solo o mezclado con diferentes polímeros o cerámicos para la obtención de andamios en ingeniería de tejido óseo. Algunos estudios han reportado la buena proliferación celular, la adhesión y la mineralización para este tipo de compuestos a base de quitosano, no obstante, el uso de estos biopolímeros se ve limitado por las bajas propiedades mecánicas que presentan, por ello, las investigaciones se han centrado en el diseño y obtención de materiales compuestos para abatir este tipo de desventajas mediante la adición de nanoestructuras a base de carbono o nanopartículas inorgánicas.

En la Figura 2, se presenta la estructura química del quitosano, la cual posee múltiples grupos funcionales como alcoholes, aminos, amidas y éteres, lo que le brinda la capacidad de ser altamente reactivo y poder interactuar con diferentes moléculas a la hora del entrecruzamiento, lo cual es muy favorable debido a que por si solo el quitosano presenta bajas propiedades mecánicas (Balagangadharan y col., 2018).

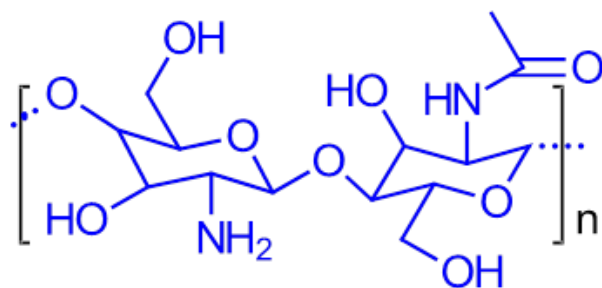


Figura 2. Estructura química del quitosano.

Karakeçili y col. (2019) reportaron la obtención de un material a base de quitosano con nanocristales de Zeolitic imidazolate framework (ZIF8) cargados con vancomicina, preparados mediante hilatura en húmedo, es un tipo de extrusión preparados mediante extrusión reactiva. obteniendo una eficiencia de carga del fármaco del 99.3% además, lograron una liberación controlada sensible al pH 7.4. Por otro lado, los andamios con los nanocristales a diferencia de los andamios de quitosano puro, mostraron un efecto antimicrobiano contra *S. aureus*, así como actividad osteogénica y de proliferación celular, reportándolo como un posible sustituto óseo con entrega de fármacos.

Recientemente los investigadores Perez-Puyana y col. (2020a) reportaron la obtención de un andamio a base de quitosano con gelatina, el cual se obtuvo mediante tres procesos distintos. Sin embargo, todos los procesos tenían en común los tradicionales pasos para la preparación de andamios, mediante la técnica de separación de fases, la cual consiste en la preparar la solución polimérica, posteriormente centrifugación, después llevarla a congelarla y finalmente liofilizarla. Logrando mejorar las propiedades mecánicas, esto debido al diseño de las concentraciones óptimas para la formación del andamio. Además del tratamiento térmico antes de congelar la solución polimérica.

Andamios a base de quitosano entrecruzados

Se han reportado diversos andamios a base de quitosano debido a las excelentes propiedades con las que cuenta, no obstante, una limitante para la utilización de este polisacárido es su baja estabilidad mecánica, por lo cual numerosos autores han reportado el entrecruzamiento tanto químico como físico para coadyuvar a esta desventaja. En la Tabla 1, se presenta algunos andamios a base de quitosano entrecruzados con diferentes agentes de entrecruzamiento, destacando que las moléculas orgánicas multifuncionales son los candidatos ideales para el entrecruzamiento de este tipo de andamios.

Tabla 1. Andamios a base de quitosano con diferentes agentes de entrecruzamiento.

Composito	Entrecruzamiento	Propiedades	Referencia
Hidroxiapatita	Dióxido de zirconio	Promovieron la diferenciación de osteoblastos	(Balagangadhar an y col., 2018)
Quitosano/Colágeno	1-Hidróxido de amonio 2-Glutaraldehído	1-Morfología homogénea y mayor interconectividad 2-Citotoxicidad morfología heterogénea	(Reyna-Urrutia y col., 2019)
n-Hidroxiapatita	Genipina	Promovieron una mineralización, aumento la actividad de la fosfatasa alcalina en osteoblastos y mayor resistencia a la compresión	(Lu y col., 2019)
Hidroxiapatita	Glutaraldehído	Mayor adsorción por la HAP	(Liaw y col., 2020)
Quitosano/Fosfato de calcio (CaP), Clorhidrato de moxifloxacina	Glutaraldehído	Indujo diferenciación de osteoblastos, liberación completa de fármaco, redujo el recuento bacteriano y la inflamación.	(Radwan y col., 2020)
Quitosano/colágeno	Genipina	Condujo a mejoras significativas en la deformación y un aumento en la porosidad.	(Perez-Puyana y col., 2020b)

Andamios a base de quitosano con nanopartículas inorgánicas

Otra de las alternativas que se han estudiado por numerosos investigadores, es la integración de nanopartículas o nanoestructuras para dar mayor resistencia mecánica al andamio, así como, potencializar alguna de sus propiedades como la adherencia celular y la proliferación. Rubina y col. (2016) reportaron la obtención de un andamio a base de quitosano con colágeno y la adición de nanopartículas de Ag y Au, ellos encontraron que este tipo de nanopartículas brinda propiedades magnéticas, así como, una mejor actividad antimicrobiana para los andamios.

Por otro lado, para favorecer la cicatrización de heridas Rezaii y col. (2019) estudiaron la integración de nanopartículas de curcumina, el cual es un antioxidante natural sobre andamios a base de colágeno y quitosano, revelaron un aceleración en la cicatrización de la herida, debido a la integración de las nanopartículas así como, al contenido de colágeno, reportando este tipo de andamios como un potente material tópico ideal para la cicatrización de heridas cutáneas. La porosidad de los andamios es un factor importante para promover la adhesión celular por lo que Hasan y col. (2018) estudiaron el efecto de la integración carboximetil celulosa y nanopartículas de Ag, sobre andamios a base de quitosano, reportando que la carboximetil celulosa aumentó hasta en un 80-90% la porosidad de los andamios, además estos autores lograron mejorar la resistencia a la compresión de 0.35 MPa a 3.95 MPa, que es similar a la del hueso, esto debido a las nanopartículas, así mismo, los andamios mostraron un aumento en la propiedad antimicrobiana.

Andamios a base de quitosano con nanoestructuras a base de carbono

Al mismo tiempo, otra de las opciones que se han investigado hoy en día, es la integración de nanoestructuras a base de carbono con el fin de favorecer la resistencia mecánica y brindar una mayor porosidad y proliferación celular para este tipo de andamios a base de quitosano (Yilmaz, y col., 2019), en la Tabla 2, se muestran algunos andamios a base de quitosano y la integración con nanoestructuras a base de carbono como nanotubos de carbono de pared múltiple (NTCPM) y óxido de grafeno (OG). Observando que la integración de este tipo de

nanoestructuras a base de carbono le brinda propiedades únicas al andamio como una buena porosidad interconectada, una mayor estabilidad térmica, una conductividad eléctrica adecuada y sobre todo una mayor proliferación celular.

Tabla 2. Andamios a base de quitosano con nanoestructuras de carbono.

Polímero	Composito	Propiedades	Aplicación	Referencia
Quitosano	NTCPM- Funcionalizados- Hidroxiapatita	Buena estabilidad térmica, porosidad interconectada y proliferación celular	Ingeniería de tejido óseo	(Venkatesan y col., 2011)
Quitosano	NTCPM- Funcionalizado	Mayor porosidad, aumento de la actividad fosfatasa alcalina y proliferación celular	Posibles aplicaciones en el área de ingeniería de tejido óseo	(Venkatesan y col., 2012)
Quitosano	NTCPM- Funcionalizados	Aumento de la conductividad eléctrica, aumento de la actividad fosfatasa alcalina y la resistencia mecánica	Potencial utilización en ingeniería de tejido óseo	(Gholizadeh y col., 2017)
Quitosano	Hidroxiapatita-Óxido de grafeno	Mayor viabilidad celular y mejor resistencia mecánica	Candidato prometedor para materiales de tejido óseo	(Yilmaz et al., 2019)
Quitosano	Óxido de grafeno	Mejorar las propiedades físicas y mecánicas de los andamios	Ingeniería de tejido de cartílago	(Shamekhi y col., 2019)
Quitosano	NTCPM Grafeno	Mayor conductividad eléctrica, modulo elástico y resistencia a la tracción	Adhesión diferencial de células neuronales y crecimiento de neuritas	(Gupta y col., 2019)

En la Tabla 3 se presentan algunas de las principales patentes para andamios utilizados en ingeniería tejidos, destacando que la investigación de este tipo de materiales se da principalmente en Estados Unidos de Norte América y Corea del Sur, por lo cual, tiene una importancia considerable el estudio de este tipo de andamios a base de polímeros bisbisados.

Tabla 3. Las principales patentes para compuestos de quitosano empleados en la ingeniería de tejidos.

Registro	Año	País	Patente	Referencia
US8568769B2	2013	Estados Unidos	Materiales porosos complejos que contienen partículas	(Ma y Wei, 2013)
US20120272347A1	2012	Estados Unidos	Sistema de cultivo celular de andamios de quitosano-alginato y métodos relacionados	(Zhang y col., 2012)
KR20120052116A	2012	Corea del Sur	Compuesto de hidroxapatita y quitosano injertado con nanotubos de carbono para la ingeniería de tejido óseo y un método para preparar el mismo	(Kim Se-kwon y col., 2012)
US20120149111A1	2012	Estados Unidos	Andamios de polímero poroso para la ingeniería de tejidos neurales y métodos para producir los mismos	(Wegst y col., 2012)
US20110076254A1	2011	Estados Unidos	Andamios porosos para la renovación de células madre	(Zhang y col., 2011)
KR20070082114A	2007	Corea del Sur	Método de cocultivo de fibroblastos y queratinocitos en armazones biocompatibles	(Yunyoung Kim y col., 2007)

Conclusiones

En la presente revisión bibliográfica se describen algunas de las importantes propiedades y aplicaciones del quitosano, el cual es un polímero natural y biobasado que se ha destacado por la buena biocompatibilidad y degradación que presenta, lo cual lo hace un buen candidato para aplicaciones en la biomedicina.

Sin embargo, presenta algunas limitantes, como su baja estabilidad química y mecánica. Por tal motivo se hace uso del entrecruzamiento para abatir estas desventajas, así como, la integración de nanoestructuras de carbono e hidroxiapatita para lograr una mejor estabilidad tanto química como mecánica, lo que está de acuerdo con lo reportado por diversos autores en esta revisión. Esto conlleva a concluir que la obtención de materiales compuestos biobasados como los reportados son candidatos idóneos para aplicaciones en ingeniería de tejidos.

Bibliografía

Balagangadharan, K., Viji Chandran, S., Arumugam, B., Saravanan, S., Devanand Venkatasubbu, G., y Selvamurugan, N. (2018). Chitosan/nano-hydroxyapatite/nano-zirconium dioxide scaffolds with miR-590-5p for bone regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 953-958.

Dave, K., y Gomes, V. G. (2019). Interactions at scaffold interfaces: Effect of surface chemistry, structural attributes and bioaffinity. *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110078.

Dong, X., Cheng, Q., Long, Y., Xu, C., Fang, H., Chen, Y., y Dai, P. H. (2020). A Chitosan Based Scaffold with Enhanced Mechanical and Biocompatible Performance for Biomedical Applications. *Polymer Degradation and Stability*, 109322.

Eivazzadeh-Keihan, R., Maleki, A., de la Guardia, M., Bani, M. S., Chenab, K. K., Pashazadeh-Panahi, P., Baradaran, B., Mokhtarzadeh, A., y Hamblin, M. R. (2019). Carbon based nanomaterials for tissue engineering of bone: Building new bone on small black scaffolds: A review. *Journal of Advanced Research*, 18, 185-201.

Gholizadeh, S., Moztafzadeh, F., Haghhighipour, N., Ghazizadeh, L., Baghbani, F., Shokrgozar, M. A., y Allahyari, Z. (2017). Preparation and characterization of novel functionalized multiwalled carbon nanotubes/chitosan/ β -Glycerophosphate scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 365-372.

Gupta, P., Agrawal, A., Murali, K., Varshney, R., Beniwal, S., Manhas, S., Roy, P., y Lahiri, D. (2019). Differential neural cell adhesion and neurite outgrowth on carbon nanotube and graphene reinforced polymeric scaffolds. *Materials Science and Engineering C*, 97, 539-551.

Hasan, A., Waibhaw, G., Saxena, V., y Pandey, L. M. (2018). Nano-biocomposite scaffolds of chitosan, carboxymethyl cellulose and silver nanoparticle modified cellulose nanowhiskers for bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 923-934.

Karakeçili, A., Topuz, B., Korpayev, S., y Erdek, M. (2019). Metal-organic frameworks for on-demand pH controlled delivery of vancomycin from chitosan scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110098.

Liaw, B.-S., Chang, T.-T., Chang, H.-K., Liu, W.-K., y Chen, P.-Y. (2020). Fish scale-extracted hydroxyapatite/chitosan composite scaffolds fabricated by freeze casting—An innovative strategy for water treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 382, 121082.

Lu, H. T., Lu, T. W., Chen, C. H., y Mi, F. L. (2019). Development of genipin-crosslinked and fucoidan-adsorbed nano-hydroxyapatite/hydroxypropyl chitosan composite scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 973-984.

Ma, P. X., & Wei, G. (2013). *Particle-containing complex porous materials* (United States Patent N.º US8568769B2).

<https://patents.google.com/patent/US8568769B2/en?q=scaffolds+chitosan&oq=scaffolds+chitosan+>

Moreno Madrid, A. P., Vrech, S. M., Sanchez, M. A., y Rodriguez, A. P. (2019). Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 100, 631-644.

Perez-Puyana, V., Rubio-Valle, J. F., Jiménez-Rosado, M., Guerrero, A., y Romero, A. (2020). Chitosan as a potential alternative to collagen for the development of genipin-crosslinked scaffolds. *Reactive and Functional Polymers*, 146, 104414.

Perez-Puyana, Víctor, Rubio-Valle, J. F., Jiménez-Rosado, M., Guerrero, A., y Romero, A. (2020). Alternative processing methods of hybrid porous scaffolds based on gelatin and chitosan. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 102, 103472.

Radwan, N. H., Nasr, M., Ishak, R. A. H., Abdeltawab, N. F., y Awad, G. A. S. (2020). Chitosan-Calcium Phosphate Composite Scaffolds for Control of Post-operative Osteomyelitis: Fabrication, characterization, and in vitro–in vivo evaluation. *Carbohydrate Polymers*, 116482.

Reyna-Urrutia, V. A., Mata-Haro, V., Cauich-Rodriguez, J. V., Herrera-Kao, W. A., y Cervantes-Uc, J. M. (2019). Effect of two crosslinking methods on the physicochemical and biological properties of the collagen-chitosan scaffolds. *European Polymer Journal*, 117, 424-433.

Rezaii, M., Oryan, S., y Javeri, A. (2019). Curcumin nanoparticles incorporated collagen-chitosan scaffold promotes cutaneous wound healing through regulation of TGF- β 1/Smad7 gene expression. *Materials Science and Engineering: C*, 98, 347-357.

Rubina, M. S., Kamitov, E. E., Zubavichus, Ya. V., Peters, G. S., Naumkin, A. V., Suzer, S., y Vasil'kov, A. Yu. (2016). Collagen-chitosan scaffold modified with Au and Ag nanoparticles: Synthesis and structure. *Applied Surface Science*, 366, 365-371.

Shamekhi, M. A., Mirzadeh, H., Mahdavi, H., Rabiee, A., Mohebbi-Kalhari, D., y Baghaban Eslaminejad, M. (2019). Graphene oxide containing chitosan scaffolds for cartilage tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 127, 396-405.

Venkatesan, J., Qian, Z. J., Ryu, B., Ashok Kumar, N., y Kim, S. K. (2011). Preparation and characterization of carbon nanotube-grafted-chitosan—Natural hydroxyapatite composite for bone tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 569-577.

Venkatesan, J., Ryu, B. M., Sudha, P. N., y Kim, S. K. (2012). Preparation and characterization of chitosan-carbon nanotube scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(2), 393-402.

Wegst, U. G. K., Wheatley, M., RIBLETT, B. W., Francis, N., y DONIUS, A. E. (2012). *Porous Polymer Scaffolds for Neural Tissue Engineering and Methods of Producing the Same* (United States Patent N.º US20120149111A1).

<https://patents.google.com/patent/US20120149111A1/en?q=scaffolds+chitosan&oq=scaffolds+chitosan+>

Yılmaz, P., öztürk Er, E., Bakırdere, S., ülgen, K., y özbek, B. (2019). Application of supercritical gel drying method on fabrication of mechanically improved and biologically safe three-component scaffold composed of graphene oxide/chitosan/hydroxyapatite and characterization studies. *Journal of Materials Research and Technology*, 8(6), 5201-5216.

Zhang, M., Kievit, F., y Leung, M. C. (2012). *Chitosan-alginate scaffold cell culture system and related methods* (United States Patent N.º US20120272347A1).

<https://patents.google.com/patent/US20120272347A1/en?q=scaffolds+chitosan&oq=scaffolds+chitosan+>

Zhang, M., Li, Z., y Leung, M. C. (2011). *Porous scaffolds for stem cell renewal* (United States Patent N.º US20110076254A1).

<https://patents.google.com/patent/US20110076254A1/en?q=scaffolds+chitosan&oq=scaffolds+chitosan+>

Zou, Y., Zhang, L., Yang, L., Zhu, F., Ding, M., Lin, F., Wang, Z., y Li, Y. (2018). “Click” chemistry in polymeric scaffolds: Bioactive materials for tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 273, 160-179.

Kim Se-kwon, Ryu Bomi, Benka Taesan Jaya Chandran y Jung-Ji, Chen. (2012). Compuesto de quitosano-hidroxiapatita conjugado con nanotubos de carbono para la ingeniería de tejidos óseos y su método de fabricación (Patent N.º KR20120052116A).

<https://patents.google.com/patent/KR20120052116A/en?q=scaffolds+chitosan&oq=scaffolds+chitosan+>

Yunyoung Kim, Kisook Park y Eunkyu Lee. (2007). Co-cultivo de fibroblastos y queratinocitos en un andamio biocompatible (Patent N.º KR20070082114A).

<https://patents.google.com/patent/KR20070082114A/en?q=scaffolds+chitosan&oq=scaffolds+chitosan+>