

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

IDENTIFICACIÓN DE BIOMATERIALES PARA USO EN INGENIERÍA DE TEJIDO DE PIEL-REVISIÓN

Ana Cristina Colorado Cañola

Carlos Andrés Agudelo Mejía

Ingeniería Biomédica

Asesor:

Ing. María Elena Moncada, PhD

INSTITUTO TECNOLÓGICO METROPOLITANO

Febrero de 2013

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

RESUMEN

Una de las áreas emergentes en el ámbito médico es la ingeniería de tejidos. Dentro de ella los avances más notorios y avanzados se encuentran en la aplicación a traumatismos de piel. El importante número de personas afectadas ya sea por heridas, quemaduras o enfermedades ha hecho de esta aplicación una de las más estudiadas en los últimos años. En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica sobre diferentes materiales comerciales y no comerciales empleados en el proceso de recuperación de tejido de piel. La búsqueda incluyó una recopilación de conceptos relacionados con el área de ingeniería de tejidos y analizó las ventajas y desventajas de diferentes materiales naturales y sintéticos empleados como sustitutos dérmicos, epidérmicos y dérmicos-epidérmicos. Los hallazgos señalan un amplio camino por recorrer en la creación de nuevos materiales y técnicas que permitan una mejor asociación de nuevos materiales con las funciones completas de la piel. Reconociendo sin embargo el gran apoyo que los biomateriales naturales y sintéticos actuales están representando para la reposición de piel de personas actualmente afectadas. Se enmarca también como un área potente de aplicación, el desarrollo de materiales en base al uso de nanomateriales, los cuales permiten hacer las modificaciones estructurales al material base, generando dominio sobre respuestas deseadas específicas.

Palabras clave: *Biomaterials, nanomaterials, tissue engineering, skin, scaffolds.*

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

RECONOCIMIENTOS

Expresamos nuestro más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial a la Dr. María Elena Moncada directora de esta investigación, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido a lo largo de este año. Especial reconocimiento por el interés mostrado por nuestro trabajo y las sugerencias recibidas de la profesora y amiga, con la que nos encontramos en deuda por el ánimo infundido y la confianza que en nosotros depósito.

Un análisis objetivo muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de las personas que estuvieron brindándonos este apoyo y de la institución que ha facilitado las cosas para que este trabajo llegue a un feliz término.

Un reconocimiento muy especial para nuestras familias y amigos por la comprensión, paciencia y el ánimo recibido. A todos ellos, muchas gracias.

Por ello, es para nosotros un verdadero placer utilizar este espacio para ser justos y consecuentes con estas personas, expresándoles nuestros agradecimientos.

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

ACRÓNIMOS

ALI Interfase aire-líquido.

CEAS Cultivo epitelial de autoinjertos.

CETS Estructura del tejido epitelial.

CHA Colágeno de ácido hialurónico.

ECM Moléculas de matriz extracelular.

ES Células madre embrionarias.

FDA Administración de alimentos y medicamentos.

GAG Glicosaminoglicanos.

HEPB Hepatitis B.

HFIP Hexafluoroisopropanos.

HSE Equivalente de piel humana.

KMSs Andamios de punto de malla.

MSC Células madre mesénquima.

PBT Poli butileno tereftalato.

PCL Poli ε-caprolactona.

PDGF Factores de crecimiento derivado de plaquetas.

PEG Copolímero de bloque.

PEGT/PBT Poli tereftalato de etileno/poli tereftalato de butileno.

PGA Poli ácido glicólico.

PLA Poli ácido láctico.

PLACL Poli ácido láctico-co-caprolactona.

| | | | |
|--|--------------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

PLGA Poli ácido láctico-co-glicólico.

PLLA Poli ácido L-láctico.

RGD Acido arginina-glicina-aspártico.

VIH Virus de la inmunodeficiencia humana.

TABLA DE CONTENIDO

| | Pág. |
|---|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 11 |
| 1.1 Generalidades | 11 |
| 1.2 Objetivos | 12 |
| Objetivo General | 12 |
| Objetivos Específicos | 12 |
| 1.3 Organización del trabajo | 12 |
| | |
| 2. MARCO TEÓRICO | 13 |
| 2.1 La Piel | 13 |
| Estructura de la piel | 13 |
| Funciones de la Piel | 14 |
| 2.2 Ingeniería de tejidos | 17 |
| Biomateriales | 19 |
| <i>Características de los biomateriales</i> | 20 |
| <i>Ingeniería y regeneración</i> | 21 |
| Estrategias de construcción | 23 |
| Nanomedicina en Ingeniería de tejidos | 24 |

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

| | |
|--|-----------|
| 3. METODOLOGÍA | 28 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 29 |
| 4.1 Ingeniería de tejidos y la piel | 29 |
| 4.2 Heridas y sustitutos | 32 |
| Heridas | 32 |
| <i>Las lesiones epidérmicas</i> | 33 |
| <i>Las lesiones superficiales de espesor parcial</i> | 33 |
| <i>Las lesiones profundas de espesor parcial</i> | 33 |
| <i>Las lesiones de espesor completo</i> | 34 |
| Sustitutos de piel | 35 |
| <i>Los sustitutos dermo-epidérmicos</i> | 35 |
| <i>Los sustitutos epidérmicos</i> | 36 |
| <i>Los sustitutos cutáneos</i> | 37 |
| 4.3 Biomateriales | 38 |
| Materiales naturales | 38 |
| Aloinjerto | 40 |
| <i>Alloderm, Karoderm, SureDem, Graftjacket</i> | 41 |
| <i>OrCell</i> | 41 |
| Autoinjerto | 42 |
| <i>Dermagraft</i> | 43 |
| <i>PolyActive</i> | 43 |
| <i>Epitel, EPIBASE, EpiDex</i> | 44 |

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

| | |
|---|----|
| <i>MySkin</i> | 44 |
| <i>Bioseed-S</i> | 45 |
| <i>CellSpray</i> | 45 |
| <i>Transcyte</i> | 45 |
| Xenoinjertos | 46 |
| <i>Apligaf</i> | 46 |
| <i>Permacol</i> | 46 |
| <i>OASIS matriz de herida</i> | 47 |
| <i>EZ Derm</i> | 47 |
| <i>Integra</i> | 48 |
| El colágeno | 48 |
| <i>Colágeno hidratado de geles</i> | 50 |
| <i>Colágeno Bovino</i> | 51 |
| <i>Colágena enriquecida</i> | 52 |
| La Fibroína | 52 |
| El Quitosano | 54 |
| <i>Hidrogeles de quitosano</i> | 54 |
| Materiales Sintéticos | 55 |
| Andamios para la ingeniería de tejidos | 57 |
| <i>Andamios</i> | 57 |
| <i>Electrospun para la ingeniería de tejidos</i> | 59 |
| <i>Andamios seda y células madre</i> | 60 |
| <i>Andamios 3D con gel de colágeno</i> | 62 |
| <i>Andamios de punto de malla con colágeno híbrido KMSs</i> | 63 |

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

| | |
|--|-----------|
| <i>Andamios de colágeno híbrido PLGA</i> | 65 |
| <i>Andamios con fibroína combinada</i> | 66 |
| <i>Andamios de PEGT/PBT</i> | 66 |
| <i>Nano-andamios en ingeniería de tejidos</i> | 67 |
| Nano-partículas de plata | 68 |
| | |
| 4.4 Retos | 70 |
| | |
| 5. CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO | 75 |
| | |
| REFERENCIAS | 78 |
| | |
| ANEXO: Tabla de biomateriales con sus ventajas, desventajas y aplicaciones para tratamiento de piel | 88 |

| | | | |
|--|--------------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

LISTADO DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|------|
| Figura 1. Funciones de la piel | 16 |
| Figura 2. Morfologías de nanomateriales, de izquierda a derecha: fullerenos, nanotubos, nanofibras, dendrimeros | 25 |

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

La ingeniería de tejidos es una rama de estudio que ha venido creciendo desde los últimos treinta años, con diferentes aplicaciones en piel, hueso, tejido neural, tejido cardiovascular, entre otros (Estrada, Paz, & López, 2006). Una de las aplicaciones más trabajadas es la referente a la ingeniería de tejido de piel, con importantes avances en el desarrollo de sustitutos. La piel es un órgano primordial para el ser humano que proporciona protección a toda la complejidad sistemática de la vida humana. En materia de tejido de piel, se estima que aproximadamente el 1% de la población mundial puede sufrir de una quemadura seria en algún momento de su vida. En Europa, anualmente, alrededor de un millón de personas recibe atención médica por heridas de piel y en Estados Unidos reporta una incidencia de personas quemadas de 1,5 millones al año, de las cuales 60.000 - 80.000 requieren hospitalización, y entre 5.000 - 6.500 mueren (Zlochiver et al., 2004). En Suramérica, las causas principales de heridas de piel son los incidentes domésticos, industriales o laborales, derrame de líquidos calientes, llama directa y electricidad (Franco, Gonzáles, Díaz, Pardo, & Ospina, 2006). En Antioquia, se presentan múltiples casos de pacientes con quemaduras por manipulación de líquidos calientes y pólvora y existe una alta incidencia de pacientes con lesiones crónicas y agudas de la piel, como las úlceras provocadas por diferentes patologías (Puerta, Molina, & Cano, 2008). En este contexto y ante el aumento de investigaciones relacionadas con los biomateriales y nanomateriales para el soporte de piel sustituta, se quiso trabajar en una búsqueda bibliográfica que permita identificar cuáles son los biomateriales más utilizados y cuales las principales patologías incluidas en el área de ingeniería de tejido de piel, y conocer las ventajas y desventajas que los biomateriales presentan al momento de su aplicación.

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

1.2 OBJETIVOS

General

Identificar los biomateriales más utilizados en ingeniería de tejido para uso en algunas patologías específicas de la piel a partir de revisión de artículos científicos.

Específicos

- Establecer las principales patologías de piel sobre las que investiga el área de ingeniería de tejidos.
- Identificar los biomateriales más utilizados con sus ventajas y desventajas de aplicación en las patologías de piel encontradas.

1.3 ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO

El trabajo se organiza a partir de cinco capítulos. En capítulo uno presentan los antecedentes y objetivos; en el capítulo dos se hace la introducción a los conceptos generales relacionados con las características y funciones del tejido de la piel, y a las definiciones relativas a los biomateriales y nanomateriales. El capítulo tres introduce la metodología seguida para la recopilación y clasificación de la información y el capítulo cuatro presenta la recopilación de los resultados enmarcados dentro de las áreas fundamentales de ingeniería de tejido y la piel, heridas y sustitutos, biomateriales (estos últimos clasificados como materiales naturales y sintéticos y descritos en sus características de uso como andamios) y los retos que aún se tienen con estas aplicaciones. Finalmente en el capítulo cinco se presentan las principales conclusiones y trabajos futuros encontrados del estudio y la información recopilada y analizada.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

2. MARCO TEÓRICO

2.1 LA PIEL

Estructura de la piel

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano o animal. Ocupa aproximadamente 2m² y su espesor varía entre los 0,5mm (en los párpados) a los 4mm (en el talón). Su peso aproximado es de 5kg. Actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea, protegiéndolo y contribuyendo a mantener íntegras sus estructuras, al tiempo que actúa como sistema de comunicación con el entorno y varía en cada especie. Las tres capas principales de la piel, desde la superficie hacia la profundidad son: a) La epidermis; b) La dermis, c) La hipodermis (“Fisiología de la Piel,” n.d.).

La epidermis es un epitelio plano poli-estratificado queratinizado con cuatro capas, que a excepción de la capa basal, comprenden cada capa de células. El orden de los estratos desde el interior hacia la superficie son: 1) estrato basal, 2) estrato espinoso, 3) estrato granuloso y 4) estrato córneo (capa córnea). El espesor de la epidermis varía según la región cutánea entre 0,04 y 0,4 mm. La epidermis está constituida en aproximadamente un 90% por las células epidérmicas (queratinocitos), pero además contiene células de Langerhans (sistema inmune), melanocitos (sistema pigmentario) y células de Merkel (sistema nervioso). La dermis es un tejido mutante donde es regulada la dinámica de la epidermopoyesis y se produce y elimina la neoformación permanente y regulada de queratinocitos. Cada día se producen unas 1.200 células nuevas por milímetro cuadrado con un tiempo de tránsito desde la formación hasta la eliminación de unas 4 semanas. La cinética de proliferación es regulada por factores de crecimiento con actividad estimulante. Los factores reguladores del crecimiento

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

derivan en parte de las propias células epidérmicas, cuando se producen lesiones y en parte de las células dérmicas.

La dermis se divide en dos estratos, el estrato papilar y el reticular. El estrato papilar es un tejido conjuntivo superficial, delgado y rico en células y vasos. Su superficie forma papilas y contiene numerosos capilares que explican la unión mecánica entre la epidermis y la dermis, así como la nutrición de la epidermis. El Estrato Reticular es la capa más profunda y gruesa, rica en fibras, y que aporta firmeza al tejido conjuntivo cutáneo. Contiene los anexos cutáneos, los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios. La dermis contiene (como todos los tejidos conjuntivos) células fundamentales, fibras y sustancia fundamental (matriz extracelular).

La epidermis y la dermis (con sus vasos y sistema nervioso) están unidas a nivel morfológico y funcional. Mantienen la función, la estructura y la homeostasia en condiciones fisiológicas, y tienen la función de regeneración y curación de las heridas y de proteger las infecciones.

La hipodermis, es otro importante componente de la piel que sirve como almohadilla absorbente de golpes, protegiendo estructuras vitales, manteniendo el calor corporal y de reservorio de energía en caso de ayuno. Además, permite el desplazamiento y movilidad de la piel sobre los planos profundos. Es el soporte de vasos sanguíneos y nervios que pasan desde los tejidos subyacentes hacia la dermis. Los folículos pilosos y glándulas sudoríparas se originan en este nivel.

Funciones de la Piel

La función de la piel depende de su situación única entre el "entorno" y el "interior". Como órgano externo se enfrenta a gran número de estímulos ambientales deseables o no. Los estímulos de intensidad fisiológica son estimulantes y estabilizan la función, mientras los otros se presentan como mecanismos de defensa y protección local de la piel, que al ser superados producen las lesiones.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Las funciones protectoras de la piel son (“Fisiología de la Piel,” n.d.):

Defensa ante las infecciones por virus, bacterias u hongos: La película superficial cutánea tiene un efecto antimicrobiano, la capa córnea representa una barrera frente a los patógenos. Cuando se produce una herida (puerta de entrada), se desencadena una reacción defensiva de la piel en forma de inflamación local.

Defensa frente a los estímulos nocivos mecánicos: Las propiedades biomecánicas de la piel constituyen una barrera frente a las lesiones y las heridas. La capa córnea compacta y flexible y el tejido conjuntivo rico en fibras de la dermis protegen a la piel de los estímulos nocivos cortantes, el tejido graso subcutáneo amortigua como un colchón los golpes violentos y distribuye y amortigua su efecto. Los pelos y las uñas también desempeñan una misión defensiva.

Defensa frente a estímulos nocivos térmicos: La piel actúa como barrera aislante (sobre todo el tejido subcutáneo). La circulación sanguínea y la secreción de las glándulas sudoríparas permiten una termorregulación reactiva. La circulación y la sudoración termorreguladora estén especialmente desarrolladas en las personas "desnudas" para compensar la pérdida evolutiva del pelo protector.

Defensa frente a las radiaciones nocivas: La piel refleja y absorbe la luz. Después de la reflexión-absorción de la luz en la película superficial y en la capa córnea, se produce la absorción de los rayos que hayan penetrado por la melanina. No obstante, los daños celulares por la radiación se evitan por los mecanismos de reparación enzimáticos.

Defensa frente a estímulos nocivos químicos: La piel posee capacidad tampón en la película superficial cutánea y es una "barrera a la penetración" por el estrato córneo.

Barrera respecto al mundo interior: La piel impide el intercambio incontrolado desustancias entre el cuerpo y el entorno, por lo que resulta fundamental para la homeostasis interna. Cuando se producen lesiones o defectos existe el riesgo de pérdida de líquido, electrolitos y proteínas con las consiguientes alteraciones del metabolismo o pérdidas de sangre.

Función sensitiva: La piel tiene receptores sensitivos repartidos en toda su superficie que le permiten el reconocimiento del medio ambiente y la defensa ante los peligros.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Los estímulos adecuados provocan las sensaciones de tacto, presión, temperatura y dolor y permite el reconocimiento de la intensidad y la procedencia del estímulo. Los estímulos pueden desencadenar reacciones motoras voluntarias o involuntarias reflejas.

Función de comunicación y expresión: La piel como órgano superficial sería valorado para obtener conclusiones acerca de la edad, estado anímico, carácter. El estado y aspecto de la piel determina también en gran medida la imagen propia, de donde la piel normal y patológica tienen un importante papel psicosocial.

Función metabólica y de reserva: La piel puede acumular agua en forma de edema y desecarse ante una gran pérdida de agua (exicosis). Cuando se produce una sobre alimentación se puede acumular un exceso de grasa (adiposidad) y en la desnutrición se pierde dicho depósito (caquexia). A nivel metabólico destaca la síntesis fotoquímica de la vitamina D (si falta la luz solar se puede producir raquitismo).

Órgano de alta complejidad inmunológica: Participa en la vigilancia inmunológica. Dado que sus células (queratinocitos, linfocitos, fibroblastos, melanocitos y células de Langerhans) sintetizan numerosas sustancias inmunológicamente activas, intervienen en el reconocimiento e internalización de antígenos, autorregulan el crecimiento y la diferenciación de sus componentes celulares, participan activamente en el tráfico linfocitario, y es uno de los órganos diana, en los intrincados mecanismos de la inflamación. Las sustancias inmunológicamente activas son interleuquinas, factores transformadores de crecimiento, factores estimuladores de colonias, interferones y citolisinas (Fig. 1).



Fig. 1. Funciones de la piel. (Modificada de Rusinol; 2012)

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

2.2 INGENIERÍA DE TEJIDOS

El término Ingeniería de tejidos nació en 1987 (Lanza, Langer, & Vacanti, 2007a) y se desarrolló como una alternativa al trasplante tradicional de órganos debido a la escasez de estos o rechazo por parte de los pacientes. La ingeniería tisular es definida como la “Ciencia del diseño y fabricación de nuevos tejidos para el restablecimiento funcional de órganos alterados y la sustitución de estructuras dañadas por traumatismos o enfermedades”.

La convención fundamental de la ingeniería de tejidos parte de la capacidad inherente del cuerpo humano para curarse a sí mismo. Esta capacidad de auto-reparación de enfermedades o heridas y regeneración depende del tejido específico o sistema de órganos, limitada por el grado de daño, pérdida de la función y la complejidad del número de tejidos involucrados. El proceso de reparación sin embargo, se ha mejorado en gran medida gracias a los avances en la tecnología médica (Chen, Liang, & Thouas, 2012). En el campo de la cirugía reconstructiva, por ejemplo, se han generado avances en la ingeniería de tejidos, especialmente a través de xeno-trasplante de tejidos, prótesis y manipulación localizada de sitios de lesión a nivel celular y molecular. Estos trabajados en conjunto con los enfoques convencionales de reconstrucción tales como auto y aloinjerto de tejido (Artico et al., 2003).

La ingeniería de tejidos se conecta con la práctica médica haciendo énfasis en los tejidos y la terapia basada en células. Los enfoques predominantes incluyen métodos de recolección y la expansión de los tejidos vivos in vitro, y el diseño de los biomateriales y andamios que proporcionan el soporte estructural adecuado que coincida con el tejido de elección. Cuando un tratamiento médico se centra más en la regeneración de los tejidos vivos in vitro o ex vivo, utilizando métodos de biotecnología, es cuando la cirugía reconstructiva pasa a denominarse ingeniería de tejidos (Bell, 2000). El punto básico de la ingeniería de tejidos es la utilización de células vivas cultivadas en el laboratorio y que pueden ser genéticamente modificadas. Las células son cargadas en número suficiente sobre los andamios, para la posterior implantación, permitiendo a los cirujanos manipular el medio ambiente local del tejido

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

y proporcionando una alternativa fisiológica con mejor y más rápida recuperación del cuerpo(Chen et al., 2012). Las células son sembradas en una matriz natural (como colágeno simulando el entorno de las células en los tejidos) o cualquier otro tipo de soporte o estructura tridimensional que imite la estructura de un órgano.

El punto de partida de la Ingeniería de tejidos se puede fijar en los estudios pioneros de Lanza et al, que concibió la idea de dotar a las células de un andamio, armazón o matriz de soporte para su crecimiento y posterior formación de tejido(Lanza et al., 2007a). En 1986 R.Langer y J. Vacanti demuestran que las células hepáticas desarrolladas en una estructura plástica pueden funcionar correctamente tras su trasplante en animales y también se describe la formación de vasos sanguíneos a partir de células endoteliales, musculares y fibroblastos crecidas sobre una malla de dacron impregnada con colágeno.

La ingeniería de tejidos es un campo de investigación multidisciplinar, que implica las áreas de medicina, biología, ciencia de materiales y la ingeniería. Uno de los objetivos más importante es el diseño de los biomateriales que soporten las células y las moléculas de señalización para permitir la regeneración del tejido que lleven a una alternativa del trasplante de órganos y la posterior reconstrucción de tejidos. Las investigaciones y desarrollos en esta área han aumentado en los últimos 40 años, dada la urgente necesidad de alternativas a tratamientos médicos relacionados con los tejidos, en particular, de los daños o pérdidas y problemas de cáncer y enfermedades degenerativas(Chen et al., 2012; Langer & Vacanti, 1993).

El desafío que enfrentan los ingenieros de tejidos hoy en día es combinar nuevos materiales con células vivas para producir un equivalente de piel, que sea a la vez funcional y duradero, y que permita la integración y la manipulación de la biología celular de las células huésped y la multitud de señales que controlan su comportamiento. Convencionalmente, la ingeniería de tejidos de la piel existe como células cultivadas *in vitro*, posteriormente sembradas en un andamio poroso y algún material que se coloca luego in vivo en el sitio de la lesión. En la actualidad, hay un número de diferentes sustitutos artificiales de la piel disponibles para uso clínico, pero

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

que aún no cumplen totalmente con los criterios funcionales de la piel (revisado extensamente en (Supp & Boyce, 2005)).

Biomateriales

En el campo de la ciencia de los biomateriales relacionados con la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa, un biomaterial se define como "una sustancia que ha sido diseñada para tener una forma que, solo o como parte de un sistema complejo, es utilizado para dirigir, por el control de las interacciones con los componentes de los sistemas vivos, el curso de cualquier procedimiento diagnóstico o terapéutico". En otras palabras, un biomaterial se utiliza para remplazar o ayudar en la función del tejido mientras está en contacto íntimo con este, sea interna o externamente (Chen et al., 2012).

Los biomateriales son compuestos compatibles con el organismo humano, que se desarrollan para ser implantados como sustitutos de tejidos y órganos, o formar parte de dispositivos biomédicos (microsistemas de liberación de drogas, microválvulas, etc.). Los biomateriales pueden ser clasificados de acuerdo a su composición en: biomateriales metálicos, biomateriales cerámicos o biomateriales polímeros naturales o sintéticos (Hubbell, 1995). *Los biomateriales metálicos* son más ampliamente utilizados para fijaciones ortopédicas, por su alta resistencia mecánica, sin embargo con un alto problema de corrosión (Oh, Kang, & Lee, 2006), que se intensifica en medios hídricos como lo es el organismo. *Los biomateriales cerámicos* (biovidrios, hidroxiapatita) presentan una alta biocompatibilidad, muy utilizados para tratamientos de hueso. Actualmente se ha integrado el uso de cementos quirúrgicos con rellenos cerámicos presentando ventajas tales como mejor fijación y estabilidad del implante y mayor promoción de la diferenciación celular, favoreciendo el crecimiento de nuevo tejido (Rumpel et al., 2006). *Los biomateriales poliméricos- (naturales o sintéticos)* por su parte, se trabajan en una gran cantidad de productos y posibilitan su manipulación físico-química para nuevas generaciones de productos. Estos materiales se presentan

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

como tejidos, fibras, películas o bloques (Burks, Bundy, Fotuhi, & Alt, 2006). En el área de los polímeros se tienen también aquellos conocidos como biodegradables y son más utilizados en soporte de células vivas, remplazo de tejidos y dispositivos para la fijación de fracturas óseas.

Características de los biomateriales

Los biomateriales utilizados para implantes y trabajo directo con el tejido biológico deben cumplir con propiedades biológicas, físicas, químicas y mecánicas específicas (Shelia MacNeil, 2008; Soria & González, 2009):

Propiedades biológicas: El ideal de cualquier material implantado en el organismo no debería provocar reacciones adversas, es decir, el material debe tener alta biocompatibilidad, para lo cual debe cumplir con requisitos tales como:

- Preferiblemente derivados de fuentes biológicas
- Ser propicio al diseño y modificación
- Tener una tasa controlada de biodegradación
- No generar citotoxicidad
- Tener una mínima respuesta inmune e inflamatoria
- Con baja inmunogenicidad
- Poseer propiedades que promuevan las interacciones célula-sustrato
- De fácil producción, purificación y procesamiento del material
- Con buena adhesión celular que facilite el crecimiento del tejido
- Compatible químicamente con soluciones acuosas y condiciones fisiológicas
- Permanecer estable en la localización implantada durante un periodo de tiempo adecuado (mínima repuesta inflamatoria y lenta degradación)

Propiedades físico – químicas: cada material presenta alteración en su superficie relacionadas con la corrosión, solubilización o degradación de sus componentes. Para aplicaciones médicas los materiales deben tener un apropiado grado de degradación que asegure el implante desde el inicio hasta el desarrollo de nuevo tejido que lo sustituya, el cual depende normalmente de su porosidad (Georges, Miller, Meaney,

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Sawyer, & Janmey, 2006). Algunas de las propiedades físico-químicas más importantes de los biomateriales son el comportamiento térmico (en tres temperaturas: de fusión, de descomposición y de transición vítrea), la cristalinidad, la resistencia a la degradación y el comportamiento mecánico (Soria & González, 2009).

Propiedades mecánicas: Los materiales para uso médico deben tener propiedades mecánicas adecuadas como rigidez, porosidad, interconectividad y tamaño de poros, superficie específica, permeabilidad y rugosidad del sustrato. Las características de la superficie del implante (rugosidad, porosidad, potencial eléctrico, humectación y comportamiento hídrico) son factores decisivos que afectan la compatibilidad y la interacción entre el material, las células adyacentes y la colonización de la superficie. La rigidez mecánica es importante en procesos de morfología, locomoción y adhesión celular y en la expresión de ciertas proteínas del citoesqueleto; una matriz más rígida podrá soportar mayores fuerzas celulares favoreciendo la extensión de la célula sobre su periferia, aunque no todos los tipos celulares responden de la misma forma ante la rigidez, pues unas responden mejor ante matrices rígidas y otras lo hacen ante las matrices blandas (Soria & González, 2009).

Ingeniería y regeneración

En la ingeniería de construcción de tejidos los biomateriales juegan un papel fundamental, pues son la matriz extracelular artificial y tridimensional sobre la cual son soportadas las células (in vitro o arrastradas en la migración in vivo de tejido del huésped) para la regeneración del sitio de la herida (Kim, Baez, & Atala, 2000). Los biomateriales polímeros son más populares en la ingeniería de tejidos debido a su versatilidad mecánica y la similitud de las características estructurales de los tejidos (excepto en ortopedia). Los polímeros biodegradables muestran además una mínima inflamación prolongada sin complicaciones asociadas con los procedimientos quirúrgicos repetidos (Nair & Laurencin, 2007).

Los biomateriales poliméricos están dominados por poliésteres termoplásticos tales como poli (ácido láctico) (PLA), poli (ácido glicólico) (PGA), policaprolactona (PCL) y sus

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

mezclas o copolímeros. El poliéster es una categoría de polímeros que contienen el grupo funcional éster en su cadena principal. Muchos ésteres, tales como ácidos grasos, son endógenos para el metabolismo humano y por lo tanto biocompatible. Aunque estos biomateriales se han caracterizado bien y se fabrican para que coincida con las propiedades bioquímicas de los tejidos blandos, generalmente falta compatibilidad mecánica entre los implantes de polímeros termoplásticos y los tejidos vivos(Chen et al., 2012).

En el tejido vivo, la elasticidad y la resistencia a la tracción se proporcionan por macromoléculas estructurales de origen natural, que incluyen colágenos, elastina y fibronectina. El colágeno, una familia de proteínas fibrosas, constituye el principal componente estructural del tejido conjuntivo, hueso y la membrana basal del epitelio. El colágeno óseo difiere del colágeno de los tejidos blandos del mismo tipo, por contener una mayor densidad de enlaces que generan mejor elasticidad a altas tensiones. Las elastinas por su parte son más flexibles a bajas tensiones, a menudo debido a complicadas estructuras secundarias.

Cada tejido específico tiene diferente nivel y conformación de las moléculas estructurales, con diferentes rangos de elasticidad pasiva. La piel, por ejemplo, contiene el colágeno y la elastina, con diversas estructuras secundarias que resultan en diferencias sutiles de la elasticidad dependiendo de la región de la piel. El músculo es más complejo, conteniendo elasticidad pasiva, contractilidad activa y proteínas dinámicas de miosina y actina, respectivamente. En general, la capacidad de estiramiento elástico es una propiedad mecánica importante de los tejidos biológicos y en efecto, para la reparación de la mayoría de los tipos de tejidos blandos, uno de los principales problemas encontrados por los científicos de biomateriales es la dificultad en el repliegue de la elasticidad innata de los tejidos, especialmente bajo situaciones de carga variables.

Grandes esfuerzos se han invertido en el desarrollo de biomateriales poliméricos capaces de imitar tejidos naturales. Sin embargo, actualmente hay pocos productos disponibles (especialmente sintéticos) para uso clínico capaces de sustituir a los tejidos blandos (como el músculo y el tejido conectivo) y con funcionalidad mecánica

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

adecuada (Freed, Engelmayr, Borenstein, Moutos, & Guilak, 2009). Aunque las razones exactas de fallo del injerto en estudios experimentales en animales y ensayos preclínicos de tejidos no se entienden completamente, al parecer están relacionan fuertemente con incompatibilidades mecánicas entre el tejido y el biomaterial.

Estrategias de construcción

En ingeniería de tejidos los andamios son los únicos capaces de establecer entornos tridimensionales que soporten las células y moléculas de señalización que pueden imitar los tejidos nativos. Los andamios son normalmente construidos de materiales naturales, sintéticos o híbridos. El uso de moléculas de señalización aumentan la eficacia del andamio dado que pueden direccionar de manera directa los fenotipos de las células contenidas e indirectamente el de las células circundantes (Chen et al., 2012).

Las estrategias de la ingeniería de tejido pueden ser celulares y acelulares. El tipo *celular* (in vitro) implica sembrar sobre un andamio las células antes de la implantación. Las células contenidas en el andamio se combinan con el tejido en el sitio de implantación y estimulan el nuevo tejido para infiltrarse, mientras que el material de soporte en sí es degradado gradualmente in vivo. Una vez que el material está totalmente reabsorbido, sólo el tejido recién generado permanece funcional. En la estrategia *acelular* (in vivo) logran el mismo resultado, pero con la diferencia de que el andamio es implantado directamente en la región dañada permitiendo la infiltración de nuevos vasos sanguíneos y fibras nerviosas, asociados con la deposición de matriz extracelular (ECM) y las redes de las macromoléculas. De esta manera, la regeneración de tejidos puede ser estimulada por moléculas de señalización cargadas dentro de los andamios para apoyar y controlar las células innatas (por ejemplo, el trasplante de células madre de la médula, progenitoras endoteliales, macrófagos, etc.) de la corriente de la sangre y del tejido (Lanza et al., 2007a). La combinación de ambas estrategias es también usada dado que los andamios son primero celularizados y luego

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

descelularizado por tratamiento enzimático, resultando en un andamio "revestido" depositado en la matriz extracelular junto con otros factores celulares. Esto tiene como ventajas la minimización del tejido anfitrión y el rechazo de las células extrañas. La ingeniería de los andamios biocompatibles con el tejido a los cuales son adheridos (in vitro o in vivo) los tipos de células específicas son fundamentales en la reparación funcional del tejido.

Nanomedicina en ingeniería de tejidos

La nanociencia y nanotecnología son definidas por The Royal Society o the Royal Academy of Engineering, UK como la capacidad de medir, ver, manipular y manufacturar cosas entre 1 y 100 nm ("Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties," n.d.) a tamaños nanométricos se presentan interacciones a nivel atómico y muchas de las leyes que rigen el comportamiento de los cuerpos a escala macroscópica dejan de ser válidas. De allí se introducen nuevos conceptos como el comportamiento de las partículas por efectos cuánticos, la relación superficie/volumen, fenómenos activos en células vivientes, auto regeneración de células, entre otros, permitiendo que los sistemas y/o materiales obtenidos a este nivel estructural puedan ser construidos con propiedades específicas y hechos a medida con nuevos beneficios potenciales y por supuesto nuevos riesgos.

Aunque las técnicas para la manufactura de nanomateriales son tan variadas como los materiales mismos, ellas pueden ser divididas dentro de dos tipos principales de aprovechamiento: procedimiento *bottom-up* y procedimiento *top-down* a partir de las cuales se crean los materiales nanoestructurados y sus morfologías (Wiesner, Lowry, Alvarez, Dionysiou, & Biswas, 2006).

Los materiales nanoestructurados son aquellos nanomateriales que poseen formas o funcionalidades especiales. Son materiales con átomos organizados en agrupaciones de tamaño nanométrico de forma ordenada para ser base en la construcción de estructuras mayores. Al ser tan pequeño el tamaño del grano se genera un incremento

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

significativo en la fracción de intercaras y fronteras de grano por volumen. Esta característica influye en las propiedades físico-químicas del material de tal forma que pueden ser modificadas sus propiedades generando materiales nanoestructurados de acuerdo a una necesidad específicas en forma de películas delgadas, envolturas de materiales, en polvos y prácticamente con cualquier forma (Kostoff et al., 2006). La Fig. 2 muestra las morfologías más comúnmente utilizadas a base de nanomateriales.

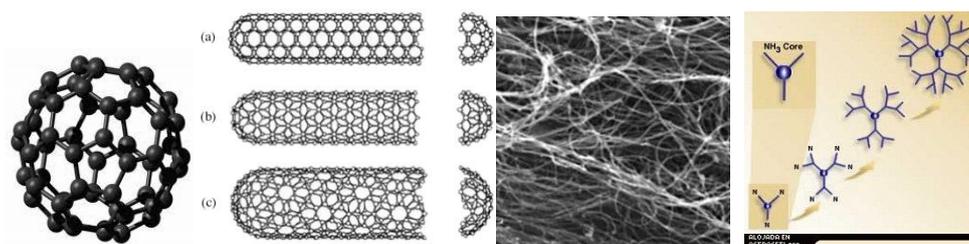


Fig. 2. Morfologías de nanomateriales, de izquierda a derecha: fullenos, nanotubos, nanofibras, dendrimeros. (cc)

La nanotecnología con aplicaciones médicas directas es conocida como *nanomedicina*. Esta se puede definir como la ciencia y la tecnología utilizada en el diseño y evaluación de sistemas complejos a escala nanométrica, formados por al menos dos componentes, uno de los cuales es el principio activo o molécula biológicamente activo y el segundo, es el propio sistema que permite una función especial relacionada con el diagnóstico, tratamiento o prevención de una enfermedad. Las principales áreas de investigación en nanomedicina han sido: administración de fármacos, diagnóstico y medicina regenerativa:

En la *administración de fármacos* los sistemas se orientan a mejorar la biodisponibilidad y farmacocinética de la terapia y a remplazar la administración invasiva por no invasiva. Los nanosistemas se componen de subsistemas avanzados con portadores de tamaños menores a 200nm. Tienen el potencial de: acumular la medicina en el tejido enfermo, incrementar la solubilidad del fármaco en medios acuosos, superar barreras biológicas tales como la barrera hemato-encefálica e Incrementar la estabilidad química del fármaco. Algunos efectos secundarios negativos son causados por su distribución no específica al interior del cuerpo del paciente, además de otras barreras aun no superadas como lo son la toxicidad de ciertos

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

polímeros, sus productos de degradación y la rápida eliminación de las partículas de la sangre por el hígado y el bazo(Lechuga, n.d.).

En el *diagnóstico* la nanotecnología ha incursionado en la selectividad, sensibilidad y nuevas técnicas para enfermedades de difícil diagnóstico. La investigación de imágenes *in vivo* se ha enfocado en las imágenes de resonancia magnética, procurando mejorar los agentes de contraste. En este sentido uno de los elementos más manejados es el óxido de hierro súper paramagnético ultra pequeño que ha sido exitosamente evaluado en tratamientos clínicos para detección de metástasis ganglionares(“Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud,” n.d.).Para el diagnóstico *in vitro* se incluye el uso de nanopartículas sistemas de sensado basados en puntos cuánticos los cuales hacen posible visualizar proteínas en células, visualizar los vasos sanguíneos, tumores o la reproducción de células simples.

En los *biomateriales e ingeniería de tejidos* el concepto es reubicar o restaurar la estructura anatómica y funcional de tejidos dañados u órganos por combinación de células, moléculas biológicamente activas y biomateriales, y estimular las fuerzas mecánicas del microambiente del tejido. Hasta la fecha, la mayoría de los estudios de ingeniería de tejidos son focalizados en la investigación de estructura macroniveles (estructura súper celular > 100 μm y estructura celular > 1 μm) para construir el grosor requerido morfológicamente y generar sistemas de órganos de tamaño real. Sin embargo, para diseñar las unidades funcionales de los tejidos, las nanoestructuras subcelular necesitan ser construidas como réplica exacta de la célula natural preambiente.

De manera general se encuentra que la nanotecnología en ingeniería de tejidos se desarrolla en tres diferentes frentes: biomateriales nanoestructurados, moléculas bioactivas de señalización y terapias basas en células.

Con los *biomateriales nanoestructurados* la nanotecnología hace posible reproducir la estructura de las matrices extra celulares a tamaño nanométrico, la cual controla ciertas funciones celulares tales como adhesión, movilidad y diferenciación celular. Diversos experimentos sugieren que las superficies nanoestructuradas de implantes

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

interaccionan más efectivamente con proteínas específicas, que mediante la función de osteoblastos (células de hueso).

Las *moléculas bioactivas de señalización* están presentes naturalmente en células y actúan como señales dentro de un complejo sistema de comunicación que gobierna y coordina la actividad básica celular y las acciones celulares. La nanotecnología desarrolla los materiales como matriz extracelular que incluye las proteínas específicas y péptidas que actuarán como señales celulares. Los científicos esperan que el desarrollo de los materiales bioactivos permita liberar las moléculas de señalización para activar ciertas funciones como estimular la reparación del tejido en los sitios de implante.

Con las *terapias basadas en células* el mayor foco es la prevención o tratamiento de enfermedades ante la administración de células alteradas ex vivo. Los nanomateriales son usados para aprovechar el potencial de auto sanación de las células, por ejemplo los nanotubos de carbono ayudan a las células madre adultas a transformarse en neuronas, los polímeros encapsulan células trasplantadas, con la manipulación de nanoporos, la membrana permite el paso de nutrientes esenciales a la vez que bloquean elementos no deseados como anticuerpos.

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

3. METODOLOGÍA

La metodología seguida para el desarrollo del trabajo fue inicialmente realizar la búsqueda de artículos, libros, páginas web y demás documentos relacionados con ingeniería de tejido y sus aplicaciones a tejido de piel. La búsqueda fue clasificada en dos ramas fundamentales una para el soporte teórico de los conceptos del tejido de piel, ingeniería de tejidos, biomateriales, nanomateriales y nanomedicina entre otros y otra en la búsqueda científica de artículos relacionados con la ingeniería de tejido aplicada a tratamientos de piel.

Para los conceptos fundamentales se contó con diversos libros científicos y la búsqueda de artículos fue realizada en las bases de datos con las que contó en su momento el ITM, a saber: SCOPUS, IEEE Xplore, Dialnet y ScienceDirect. Las palabras clave utilizadas para dicha búsqueda fueron: *Biomaterials, nanomaterials, tissue engineering, skin y scaffolds..*

Para la lectura y análisis de los artículos, estos fueron clasificados de acuerdo a su fundamentación en biomateriales y nanomateriales, y por su aplicación en ingeniería de tejido de piel en regeneración, quemaduras y tejido sustituto dérmico, epidérmico y dérmico-epidérmico.

El ítem “Resultados”, presenta el consolidado de los diferentes materiales encontrados y su correlación con la aplicación específica de patología de tejido epitelial, destacando sus ventajas y desventajas con respecto a la aplicación y a lo largo del documento se presentan los conceptos necesarios requeridos para una mejor comprensión del trabajo presentado. Finalmente son destacados los principales biomateriales (y nanomateriales) utilizados en ingeniería de tejido para apoyo al tratamiento de algunas patologías relacionadas con pérdida total o parcial de tejido epitelial, con sus ventajas y desventajas, y es presentada una tabla de recopilación de información fundamental.

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 INGENIERÍA DE TEJIDO Y LA PIEL

La Ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario de la ingeniería biomédica que pretende generar nuevos materiales biológicos para reemplazar órganos o tejidos dañados o enfermos a partir de fuente de células y una ECM compatible con las células (Metcalfe & Ferguson, 2007).

La piel es el órgano más grande el cuerpo humano y los daños en la piel tales como trauma, enfermedad, quemaduras o cirugía pueden llegar a ocasionar la muerte. La curación es un proceso fundamental para la conservación de la integridad de la piel y numerosos pacientes sufren las consecuencias de heridas deficientes en curación o problemas de cicatrización y aunque muchos estudios tratan de esclarecer los fenómenos bioquímicos, celulares y moleculares, las dificultades para aislar y analizar in vivo cada etapa del proceso de curación, han impedido una comprensión integral de la reparación de la herida (Harty, Neff, King, & Mescher, 2003).

Aunque el desarrollo de sustitutos cutáneos representan una solución a diversos problemas de la piel, estos deben cumplir con algunas características esenciales tales como: fácil manejo, fácil aplicación en la herida, con propiedades físicas y mecánicas adecuadas, ser una barrera vital con hidratación adecuada, contar con degradación controlada, adherentes, no tóxico, ser estéril, no antigénico, y con mínima actividad inflamatoria, además, de promover la angiogénesis, con mínimo dolor y ser rentable (Metcalfe & Ferguson, 2007).

La ingeniería de tejidos debe satisfacer la mayoría de estos criterios y adicionalmente las matrices deben tener la capacidad de liberar los factores de crecimiento, citoquinas y péptidos bioactivos para ser liberados temporal y espacialmente de la manera adecuada y la liberación de los factores deben promover la reparación y regeneración

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

optima del tejido. Así mismo la ECM artificial debe asimilar en el cuerpo la regeneración de nuevo tejido.

Al diseñar una estrategia para la promoción y reparación a partir de la ingeniería de tejidos es necesario identificar correctamente las fuentes celulares y los mecanismos correctos de interacción. Las células además deben ser suficientemente abundantes para llevar a cabo el proceso de regeneración completo y se han detectado importantes requerimientos tales como: (a) proporcionar una capa de barrera de queratinocitos renovables, la cual (b) se adhiera en forma segura a la dermis, de (c) buena vascularización y que (d) proporcione un soporte estructural elástico para la piel (Shelia MacNeil, 2008):

Función de la barrera de la piel: La piel artificial debe conservar la esencia de la piel normal proporcionando el agua, los electrolitos y una barrera a prueba de bacterias al mundo exterior. Ante quemaduras o úlceras crónicas estas características se pierden haciendo a los pacientes susceptibles a infecciones y limitando la cicatrización. La barrera de la piel se logra mediante las capas de queratinocitos, fibras de colágeno (formando la membrana basal) que contribuyen a la regeneración epidérmica.

Conexión segura a la dermis: La epidermis debe incorporarse a las fibras de colágeno de la dermis a través de los hemidesmosomas (receptores de adhesión que se extienden a través de la membrana celular y actúan como filamentos de anclaje para enlazar queratinocitos con la membrana basal (MB) inferior). Las proteínas que forman la MB, colágeno IV, colágeno VII y laminina, son vitales y son sintetizadas bajo instrucciones de los queratinocitos. De no mantenerse la capa de barrera epidérmica se está sujeta a una infección bacteriana.

Vascularización: La piel vascularizada es esencial para la reparación de la piel. Ante una pérdida extensa de piel, como ocurre en las lesiones de quemaduras, el paciente no puede repararla suficientemente rápido y ante la pobre vascularización, la reparación puede ser lenta o puede no ocurrir. Ante la alta población con pérdida de piel por quemadura u otras patologías e incluso por diabetes, la investigación en materiales o métodos que permitan una vascularización más rápida y mejor es un reto para el área de ingeniería de tejidos.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Elasticidad y soporte: Las fallas en reparación pueden resultar por la contracción de la piel, la fibrosis (donde los fibroblastos producen material similar a la cicatriz) y faltantes cicatriciales. La dermis a través de su compleja arquitectura de fibras enzimáticamente entrelazadas de colágeno y elastina debe proporcionar el apoyo y elasticidad requerida de la piel.

La necesidad de materiales en ingeniería tisular nació fundamentalmente para el tratamiento de heridas en las cuales hay pérdida de dermis y epidermis, pues se considera que una pérdida de piel de más de 4 cm no sanará bien sin intervención quirúrgica (Hart et al., 2000). En quemaduras de espesor parcial, la capa epidérmica superior está completamente perdida, pero sigue siendo parte de la dermis, los queratinocitos epidérmicos recubren las inclusiones cutáneas (glándulas sudoríparas y folículos pilosos) rápidamente, migrando fuera de la dermis y formando un nuevo epitelio. Cuando la pérdida es significativa, la operación conlleva la reconstrucción de la piel en dos etapas con operaciones independientes, donde se utiliza un material con equivalente dérmico que debe convertirse en zona vascularizada antes de ser un material epidérmico (a menudo de un espesor muy delgado para dividir el injerto o en ocasiones el cultivo celular en la ingeniería tisular de la piel) (Hart et al., 2000; Martínez-Méndez, Ramón Bitrián, Leyva Rodríguez, & Casado Pérez, 2010). Además de las lesiones por quemaduras, los materiales en ingeniería tisular pueden beneficiar a pacientes con úlceras crónicas y a aquellos que requieren cirugía reconstructiva (MacNeil, 2008) aunque el total entendimiento de la morfogenética, temporización de eventos y regeneración ha sido más lenta, se han logrado avances en mecanismos de biología molecular, comprensión de la cicatrización y en el desarrollo y procesos regenerativos.

La mayoría de los biomateriales en uso clínico se basan en el colágeno natural o extraído y los desafíos clínicos se concentran en el uso de biomateriales que combinados con esquemas terapéuticos: promuevan la cicatrización, mantengan la lesión aséptica, permitan la regeneración del tejido epitelial a través de un mecanismo de inducción y conducción, mejoren los métodos de cultivo celular, aumente la tasa de

| | | | |
|--|--------------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

neovascularización, tengan una respuesta más segura y con los que generen andamios que resistan la contracción y la fibrosis.

Dentro de los biomateriales utilizados para la construcción de andamios se tienen desde las sedas de araña hasta proteínas de matriz extracelular y otros biomateriales naturales (tales como colágeno) que al modificarse químicamente confieren propiedades deseables al andamio. Biomateriales sintéticos biológicamente compatibles, tales como péptidos auto-ensamblados, polímeros orgánicos, materiales inorgánicos o combinaciones de copolímeros mixtos son cada vez más utilizados para la creación de andamios (Holmes, 2002). Sin embargo, la naturaleza sigue siendo el último ingeniero del material y la necesidad de flexibilidad sigue motivando a los ingenieros de nuevos materiales.

La ingeniería de tejido de la piel es de uso clínico desde hace casi 30 años. Durante los cuales se ha llegado a analizar el papel de los biomateriales en la provisión de la cubierta epidérmica, dérmica, sustitución y reemplazo de la epidermis/dermis, al igual que los problemas que conlleva el uso. La fisiología de la piel se ha examinado en profundidad en una serie de artículos que abarcan el desarrollo de piel y células madre, la pigmentación, transducción sensorial, entre otros avances relacionados con la ingeniería de tejidos de la piel (MacNeil, 2008).

4.2 HERIDAS Y SUSTITUTOS

Heridas

La pérdida de piel puede ocurrir por muchas razones, incluyendo trastornos genéticos, traumas, heridas crónicas e incluso por intervenciones quirúrgicas. Uno de los motivos más comunes de pérdida de piel es principalmente el trauma térmico, donde importantes áreas de la piel pueden resultar dañadas, a menudo sin posibilidad de regeneración de la piel. Quemaduras y demás patologías pueden resultar en heridas

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

rápidas, amplias y profundas que no pueden ser tratadas con técnicas comunes y pueden conducir a la muerte (Shevchenko, James, & James, 2010). Las heridas pueden dividirse en: epidérmica, superficial de espesor parcial, profundas de espesor parcial y de espesor completo, dependiendo de la profundidad de la lesión (Chester, Balderson, & Papini, 2004).

Las lesiones epidérmicas

Se caracterizan por eritema y dolor menor, no requieren tratamiento quirúrgico específico y se regenera rápidamente sin cicatrices.

Las lesiones superficiales de espesor parcial

Afectan la epidermis y partes superficiales de la dermis, con epidérmico potente y dolor severo, especialmente en el caso de trauma térmico. Estas heridas se curan por epitelialización de las márgenes de la herida, donde los queratinocitos basales cambian a un tipo de células migratorias proliferantes y cubren la zona dañada. Las células migran ya sea desde el borde de la herida o de restos de glándulas sudoríparas que se encuentran en la dermis profunda (Chester et al., 2004). Los folículos pilosos y glándulas sudoríparas están alineados con las células epiteliales encargadas de la regeneración epitelial a través de la superficie de la herida. Además, los folículos pilosos de la piel humana contienen una reserva de células madre, ubicada en la región de bulbo del folículo piloso, que son capaces de auto-renovación (Blanpain, Lowry, Geoghegan, Polak, & Fuchs, 2004).

Las lesiones profundas de espesor parcial

Implican mayor daño dérmico que se traduce en menos apéndices de la piel restante y por tanto, se tarda más tiempo para sanar. La cicatrización es más pronunciada en esta profundidad de la lesión como fibroplasia y es más intensa en comparación con heridas de superficiales de espesor parcial.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Las lesiones de espesor completo

Se caracterizan por la completa destrucción de elementos epiteliales regenerativos. Este tipo de lesión se cura por contracción, con la epitelización de sólo el borde de la herida, dando lugar a defectos estéticos y funcionales. Todas las heridas de la piel de espesor total (de más de 1 cm de diámetro) requieren injertos de piel ya que no pueden epitelizar por su cuenta y puede conducir a cicatrices extensas, dando lugar a limitaciones en la movilidad articular y graves deformidades estéticas (Chester et al., 2004).

En el caso de quemaduras importantes, la táctica de tratamiento actualmente aceptado requiere una excisión temprana de una costra seca (eritemas) para eliminar las proteínas desnaturalizadas por el calor de la piel seguido por el cierre de herida. Esto evita complicaciones tales como las infecciones, síndrome de disfunción de órganos múltiples o formación de cicatriz hipertrófica. Proteínas de desnaturalizadas por el calor de los eritemas puede también provocar una respuesta inflamatoria descontrolada y también servir como una buena fuente de nutrientes para los microorganismos y patógenos (Stoilova et al., 2007). Un cierre desde el inicio de la herida se asocia con una menor mortalidad y mejores resultados funcionales a largo plazo.

Actualmente, el 'estándar de oro' en el tratamiento de las lesiones de espesor completo es el injerto de piel parcial autóloga (Supp & Boyce, 2005). La epidermis con una parte superficial de la dermis se cosecha con un dermatoma en un sitio de piel de donantes sin daños y es aplicado a la herida de espesor total. Al ser aplicado a la herida, los capilares del injerto de piel (SSG) proporcionan nutrientes para la supervivencia del injerto. El sitio donante sana de manera similar a la lesión superficial de espesor parcial por la migración de queratinocitos de folículos pilosos, glándulas sudoríparas y los bordes de la herida (Andreassi, Bilenchi, Biagioli, & D'Aniello, 2005). Cuando un injerto de piel se coloca sobre una herida, debe adquirir un suministro de sangre para mantener la supervivencia y la integración con el tejido del huésped (algunos sustitutos de piel no permiten ocurrir la angiogénesis). Sin embargo, la

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

eliminación adecuada de la piel para injerto autólogo es un proceso doloroso y no siempre es posible (por ejemplo en quemaduras extensas).

Un sustituto de la piel en ingeniería es necesario que cumpla los criterios específicos para reemplazar muchas funciones de la piel humana. Debe actuar como una barrera para los microorganismos, controlar la pérdida de líquidos y con durabilidad y elasticidad a largo plazo. Además debe ser histocompatible, apoyar la cicatrización de la herida, carecer de antigenicidad y toxicidad y ser rentable (Ahsan & Nerem, 2005). Desafortunadamente, en la actualidad las pieles sustitutas no son totalmente funcionales y carecen de folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas así como los nervios y de los suministros de sangre (Metcalf & Ferguson, 2007).

Uno de los principales problemas de los sustitutos de la piel es su incapacidad para vascularizar. Cuando se utilizan como un sistema de suministro para queratinocitos y fibroblastos cultivados, la cola de fibrina puede proporcionar ventajas similares a las probadas con los injertos de piel convencional. Sin embargo, la restauración completa de la sensibilidad de la piel no ha sido demostrada. Por otro lado, a pesar de la existencia de células madre de piel, su aislamiento y caracterización sigue siendo un reto (Metcalf & Ferguson, 2007).

Sustitutos de piel

En relación a la piel pueden ser considerados tres tipos de sustitutos: sustitutos de piel dermo-epidérmicos; sustitutos epidérmicos y sustitutos dérmicos.

Los sustitutos dermo-epidérmicos

También llamados complejos de piel sustituta, pretenden imitar la estructura histológica de la piel normal donde estén presentes las capas de la dermis y la epidermis. Estos son más avanzados que los sustitutos epidérmicos y dérmicos, y son también los más costosos (Jones, Currie, & Martin, 2002). La mayoría de estos

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

productos se basa en las células de la piel alogénico, incorporado en un andamio dérmico. Estos biomateriales actúan más bien como apósitos temporales (Supp & Boyce, 2005), proporcionan factores de crecimiento, citoquinas y ECM de células huésped mientras inician y regulan la cicatrización de heridas. Hay informes de tolerancia inmunógena, preservación a largo plazo y proliferación hasta dos meses sin signos de rechazo inmune (Morimoto et al., 2005; Shevchenko et al., 2010). Sin embargo, a pesar de los queratinocitos alogénicos proporcionar alivio efectivo del dolor y acelerar la cicatrización de las heridas, estos son rechazados unas pocas semanas después de ser aplicados a la herida (Clark, Ghosh, & Tonnesen, 2007). Al parecer para la producción de sustitutos de piel dermo-epidérmicos permanentes, los fibroblastos alogénicos o autólogos pueden utilizarse pero los queratinocitos autólogos sólo pueden utilizarse para lograr el cierre definitivo de los defectos de la piel. Un listado de sustitutos de piel (compuesto) dermo-epidérmico comercialmente disponibles pueden encontrarse en (Shevchenko et al., 2010).

Los sustitutos epidérmicos

Un paso clave en el diseño y la producción de sustitutos epidérmicos es el aislamiento de los queratinocitos de un donante y el posterior cultivo in vitro de estas células, para obtener el número necesario al momento de la aplicación terapéutica. Los diferentes enfoques para la producción de sustitutos epidérmicos dependen de: técnicas de cultivo celular, la etapa de diferenciación celular y organización epitelial, los métodos de suministro de células al paciente y los sustratos para mejorar el cultivo y la entrega de células (Sheila MacNeil, 2007).

La calidad de los autoinjertos epiteliales estratificados cultivados (CEAs) depende de la composición celular que junto con queratinocitos basales son esenciales para la supervivencia de injertos a largo plazo, determinando la supervivencia del trasplante (Chester et al., 2004). Técnicas de expansión de queratinocitos in vitro producen hojas de CEAs lo suficientemente grandes como para cubrir toda la superficie del cuerpo en tres a cuatro semanas, a partir de sólo una biopsia de piel 3 cm² (Chester et al., 2004) e incluso con el apoyo de sustancias como una matriz de fibrina es posible ampliar la

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

zona de CEAs en períodos más cortos de tiempo. Algunas desventajas de las hojas de CEAs son: largo tiempo de cultivo, friabilidad de los injertos, y complicado manejo y procedimientos de aplicación (Atiyeh & Costagliola, 2007).

Queratinocitos subconfluentes pueden ser también aplicados a la herida a través de un aerosol de suspensión celular, entregado por medio de cultivo celular o pegamento de fibrina. La cola de fibrina ha mostrado mejorar la unión celular a la herida y ayudar a controlar el sangrado, pero sin afectar la tasa de absorción de queratinocitos ni el área epitelial cubierta (Lachlan J Currie, Martin, Sharpe, & James, 2003). Los queratinocitos subconfluentes en suspensiones contribuyen más efectivamente a la formación de la membrana basal anterior mediante la unión entre las regiones dermo-epidérmica en comparación con hojas de CEAs (Andree et al., 2001). Las membranas de distribución puede ser de materiales sintéticos, tales como una membrana de soporte de silicona con un recubrimiento de superficie especialmente formulado (myskin); poliuretano o sobre la base de materiales biológicos tales como colágeno, cola de fibrina, ácido hialurónico o dermis descelularizado (Chester et al., 2004).

Los sustitutos cutáneos

La preparación de la herida y de la superficie receptora es muy importante para la aplicación de un injerto eficaz. Se informa que los autoinjertos epiteliales injertados en tejido de granulación crónica, solo el 15% de los casos lo reciben, el porcentaje sube entre 28-47% en tejido de granulación temprana o una herida reciente y entre 45-75% de integración cuando se aplica a la herida en un soporte dérmica o neodermal (Orgill et al., 1998). Otros ensayos clínicos también describen la importancia de pregraftment dérmico para la toma exitosa de queratinocitos autólogos cultivados. Estudios in vivo también han mostrado la importancia de un lecho dérmico para la epitelización exitosa de lesiones de espesor completo mediante queratinocitos con spray (Wood, Stoner, Fowler, & Fear, 2007).

La mayoría de los productos para sustituciones dérmicas son acelulares, basados en materiales alogénicos, xenogénicos o sintético. El uso de este tipo de productos se

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

hace más fácil en su fabricación y permisos de licencias para aplicaciones clínicas en comparación con células que contienen sustitutos de dos capas de la piel. La capacidad de producir grandes lotes asociados un riguroso control de calidad y bajos costos ha resultado en la matriz de productos aplicables clínicamente. Algunos de los productos adoptados y disponibles en el mercado pueden observarse en la (Shevchenko et al., 2010).

4.3 BIOMATERIALES

La Ingeniería de tejidos como sustitutos de piel implica el diseño y fabricación de acuerdo con una función u objetivo específico. Hasta ahora, las especificaciones de diseño en la piel se componen de elementos dérmicos artificiales y epidérmicos que al combinarse producen un remplazo de la piel (Supp&Boyce, 2005). Los materiales utilizados como ECM artificial hasta la fecha incluyen las derivadas de origen natural y materiales fabricados sintéticamente.

MATERIALES NATURALES

Lesiones graves en la piel como quemaduras, traumatismos o úlceras crónicas, requiere una cobertura inmediata para su reparación y restauración. El estándar de oro para el remplazo de la piel es el *injerto de piel autóloga* en el que un área de la piel se separa del tejido y es trasplantada a otra zona receptora en el mismo individuo, con un nuevo suministro de sangre. Se dice que el injerto es de espesor completo cuando la sección trasplantada comprende la epidermis y la dermis, y es de espesor parcial cuando solo una parte de la dermis es incluida. Los injertos de espesor completo son menos propensos a ser tomados que los de piel parcial, pero con mejor respuesta de la herida en cobertura y disminución de la contracción. Sin embargo, la eliminación adecuada de la piel con injerto autólogo es un proceso doloroso y no siempre es

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

posible, por ejemplo, si el paciente tiene quemaduras extensas (Ehrenreich & Ruszczak, 2006). Los *Injertos singénicos*, realizados entre individuos genéticamente idénticos, como gemelos monocigóticos, son igual a los injertos autólogos (Metcalf & Ferguson, 2007).

Los *aloinjertos* de piel de cadáver se utilizan como una cubierta temporal para las quemaduras de espesor total, pero sujetas al rechazo a causa de una reacción inmune por parte del receptor debido a los antígenos presentes en el tejido del donante (Burd & Chiu, 2005). La piel de cadáver puede ser tratada químicamente utilizando un proceso de tres pasos que incluye la eliminación de la epidermis, solubilización celular y preservación en seco, con el fin de disminuir los componentes antigénicos. Esto deja una matriz inmuno-dérmica o inerte que ayuda a la regeneración de la dermis subyacente.

Los primeros estudios llevados a cabo por Rheinwald & Verde (1975), Bell et al. (1979) y Yannas & Burke (1980) formaron la base para el desarrollo del futuro dérmico, epidérmico y sustituto de compuestos de la piel. El enfoque actual de la investigación se dirige hacia el desarrollo de una ingeniería de tejidos equivalente de la piel que combine la vida celular con componentes celulares naturales o sintéticos (Sheila MacNeil, 2007; Metcalf & Ferguson, 2007). Un sustituto de la piel en ingeniería debe cumplir criterios específicos para reemplazar muchas funciones de la piel humana, debe actuar como una barrera para los microorganismos, controlar la pérdida de líquidos, con durabilidad a largo plazo, alta elasticidad, ser histocompatible, apoyarla cicatrización de la herida y ser rentable. Metcalf & Ferguson (2007) muestra algunos de los sustitutos que están disponibles para el tratamiento de lesiones de la piel en los seres humanos, junto con las ventajas y desventajas asociadas con su uso. En la actualidad. Sin embargo, no se han construido aún sustitutos de piel que proporcionen resultados tan consistentes como el obtenido con los autoinjertos.

Ante los escasos donantes, el rechazo de los *aloinjertos* implantados e infecciones, entre otros problemas, la ingeniería de tejidos busca el uso de otros materiales que combinen, apoyen y cumplan la función necesaria de la piel, apoyados fundamentalmente en el diseño de matrices inteligentes. Las matrices han sido

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

construidas normalmente con sustancias naturales como el colágeno o preparadas a partir de polímeros biodegradables. Las células se adhieren e interactúan con su entorno mediante integrinas, adherencias focales y su capacidad para estimular las vías de señalización (señales de mecano-transducción transmitidas a las células a través de su adhesión a la matriz), regulan el desarrollo de varios tejidos. Los materiales biológicos presentan buena adhesión a la superficie de la matriz con posterior regeneración del tejido. Obviamente, hay muchos biomateriales diferentes derivados de la naturaleza, que podrían ser considerados para su uso en un contexto de la ingeniería de tejidos, algunos de los cuales incluyen polipéptidos, hidroxiapatitas, ácido hialurónico, glicosaminoglicanos (GAG), la fibronectina, el colágeno, quitosano y alginatos. Tales materiales tienen la ventaja de que tienen baja toxicidad y una baja respuesta inflamatoria crónica.

Aloinjerto

El *aloinjerto* hace referencia a la piel humana cadavérica que es utilizada como una medida temporal para cubrir la herida hasta que sea posible cerrar con un injerto de piel permanente, pero sujetas al rechazo posiblemente por reacción inmune del tejido receptor (Burd & Chiu, 2005). La piel de cadáver puede ser tratada químicamente con un proceso en el que se considera la eliminación de la epidermis, solubilización celular y preservación en seco, con el fin de disminuir los componentes antigénicos. Esto deja una matriz celular inmuno-dérmica o inerte que ayuda a la posterior regeneración de la dermis.

El aloinjerto o piel cadavérica puede utilizarse fresca o congelada. Cuando se incorpora en una herida profunda proporciona alivio del dolor y una cubierta durante y después de la lesión. Cuando el aloinjerto se convierte en vascularizado, las células epiteliales altamente inmunógenas desencadenan la respuesta inmune del huésped y muestra rechazo a las tres o cuatro semanas de la enjertación (Shevchenko et al., 2010). Cuando el aloinjerto es glicerolizado o liofilizado, se destruye el componente celular,

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

disminuyendo la reacción inmunológica, la parte cutánea del injerto se incorpora en la parte de la herida y sirve como una cama dérmica para más deposiciones del injerto de piel autóloga. Los aloinjertos han sido utilizados durante décadas y siguen siendo los principales en comparación con otros sustitutos temporales de piel (Sheridan & Tompkins, 1999). El uso de un aloinjerto está asociado con algunas complejidades como la disponibilidad de los bancos de piel, denegación de la solicitud por motivos religiosos y su seguridad para el paciente. La proyección rigurosa para enfermedades víricas y técnicas de esterilización estandarizadas reduce el riesgo de infección, pero todavía quedan riesgos de transmisión de agentes infecciosos que es necesario seguir tratando (Shevchenko et al., 2010).

AlloDerm, Karoderm, SureDerm, GraftJacket

El AlloDerm es una matriz dérmica humana liofilizada, con membrana basal conservada, actuando de manera similar a aloinjertos de cadáver. Se incorpora fácilmente en la herida y no provoca respuesta inmunógena ni rechazo debido a la falta de un componente celular. Inicialmente fue concebido como reemplazo dérmico pero ha ganado más popularidad en la reconstrucción de hernias de pared abdominal, mastectomía subcutánea, rinoplastia y revascularización (Lesser, Aboseif, & Abbas, 2008). El GraftJacket es un producto similar, pre-mallado según la aplicación y utilizado para tendones y reparación de heridas de extremidades (Furukawa et al., 2007). SureDerm utiliza dermis humana alogénica acelular liofilizada, permite la sustitución o reparación de los tejidos blandos dañados incluyendo heridas por quemadura y revisión de cicatriz hipertrófica, puede almacenarse hasta por 2 años, exige rehidratación 10 minutos antes de la aplicación y proporciona una cama dérmica para un posterior injerto de piel (H. Kim, Ahn, & Park, 2003).

OrCell

Este elemento se basa en el cultivo de fibroblastos alogénicos y queratinocitos obtenidos desde el mismo prepucio neonatal. Los fibroblastos se siembran en una

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

esponja de colágeno tipo I (bovino), posee un recubrimiento de gel de colágeno no poroso, sobre los que se agregan queratinocitos para formar una capa confluyente. El producto fue autorizado en 2001 para el tratamiento de quemaduras y distrofias recesivas. Produce una matriz de citoquinas y factores de crecimiento endotelial, vascular y de transformación, todos favorables a la migración de células receptoras y cicatrización. Como sustituto de piel artificial genera cicatrices estéticas y tiene corto tiempo de curación (Still, Glat, Silverstein, Griswold, & Mozingo, 2003).

Autoinjerto

El estándar de oro para el reemplazo de la piel es el injerto de piel autóloga. En este, se separa una zona de piel desde un tejido adecuado y se trasplanta en el mismo individuo a la zona receptora de la que debe recibir un nuevo suministro de sangre. En el sitio donde se ha quitado el injerto, la piel sanará por queratinocitos dentro de la dermis migrando hacia arriba y proliferando. Los injertos pueden ser de espesor completo (sección completa de epidermis y dermis) o espesor parcial donde se incluye solo una parte de la dermis. Los injertos de espesor completo son menos propensos a abastecerse de la piel dividida, pero proporcionan una mejor cobertura y disminución de la contracción de la herida (Metcalf & Ferguson, 2007).

El sistema autoinjerto ha mostrado ser exitoso en tratamientos de úlceras de pie diabético, neuroisquemia, úlceras neuropáticas y tratamientos postquirúrgicos (de los cuales muchos son de espesor completo con una superficie superior a 5 cm²). Algunos informes describen las combinaciones entre queratinocitos humanos y fibroblastos de células alogénicas o xenogénicas, pero principalmente en estudios in vitro (Harrison, Heaton, Layton, & Mac Neil, 2006). Existe sólo un sustituto de piel reconstruida tridimensional que ha logrado el uso clínico y ha demostrado ser muy prometedor. El producto se basa en la esponja de colágeno, inseminada con queratinocitos y fibroblastos autólogos, que ofrece un cierre de herida permanente y puede ser visto como un "sustituto de piel verdadera" (Boyce et al., 2006).

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Actualmente los sustitutos de piel compuesta disponibles usan solo las células de queratinocitos y fibroblastos, por lo que no son suficientes para realizar todas las funciones de la piel, por falta de inervación, células inmunitarias, glándulas sudoríparas y folículos pilosos. Recientes estudios han reportado mejoras a estos sustitutos incorporando células endoteliales, células de Langerhans y melanocitos (Lee, Kim, Kim, & Cho, 2007). Recientemente se encontraron como células madre de la piel de murino aisladas para el cultivo in vitro, lograron conservar características de células madre con capacidad de producir múltiples tipos de células, incluyendo los queratinocitos, folículos pilosos y las glándulas sebáceas, que fueron funcionalmente activas al ser aplicadas in vivo (Blanpain et al., 2004). Esto, junto con los estudios avanzados en células madre dan un potencial de producir piel con equivalentes histológicos similares y completamente funcionales que pueden ser usados en tratamiento de pacientes con quemaduras extensas y enfermedades agudas y crónicas (Blanpain et al., 2004; Waters, Richardson, & Jahoda, 2007).

Dermagraft

El Dermagraft es un sustituto dérmico de fibroblastos humanos criopreservados utilizado en heridas crónicas que ayuda a aumentando la tasa de cicatrización. Este producto, consiste de fibroblastos procedentes de donantes, sembrados sobre un andamio de poliglactina bioabsorbible (matriz sintética) (Shelia MacNeil, 2008). Es considerado un compuesto dérmico y epidérmico, aunque no ha sido satisfactorio para tratar quemaduras graves.

PolyActive

Es un producto bilaminar basado en cultivos de queratinocitos, mioblastos y fibroblastos autólogos sembrados sobre una matriz polimérica. Es normalmente usado para la reparación de hueso y piel. El producto utiliza mioblastos disminuyendo el riesgo de contaminación por agentes infecciosos o rechazo inmune. Sin embargo, el uso de células autólogas limita la disponibilidad del producto y aumenta sus costos en

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

comparación con los injertos alogénicos (por ejemplo, Apligraf, OrCell). El PolyActive en ingeniería tisular se utiliza como un apósito en el tratamiento de heridas de espesor parcial y también en sitios de donantes donde el injerto de piel proporcione factores de crecimiento necesarios para mejorar la cicatrización de la herida (Shevchenko et al., 2010).

Epicel, EPIBASE, EpiDex

Estos productos son fabricados utilizando queratinocitos del paciente que se cultivan en 15 días en las hojas de CEAs (cultivo epitelial de autoinjertos). Epicel y EPIBASE consisten en células derivadas de una biopsia de piel pequeña, mientras que EpiDex proviene de cultivos de queratinocitos obtenidos del exterior de la raíz de folículos pilosos de cuero cabelludo (Vacher, 2003). Este es el enfoque más antiguo en la entrega de queratinocitos y comparte los inconvenientes de largo tiempo de cultivo, difícil manejo, pobres resultados a largo plazo, necesidad de soporte cutáneo, alto costo y corta vida útil (24 h) (Horch, Kopp, Kneser, Beier, & Bach, 2005). A pesar de estas dificultades, estos productos siguen siendo valiosos en los tratamientos de pacientes quemados (Atiyeh & Costagliola, 2007).

MySkin

Este producto usa queratinocitos vivos y autólogos sub-confluentes que se cultivan en una capa de soporte de silicona con un recubrimiento especialmente formulado. Son de fácil manejo, de menor tiempo de cultivo celular y permite entregar al paciente con mayor flexibilidad de tiempo (que no puede lograrse con injertos de cultivo corrientes del epitelio. Es utilizado clínicamente en tratamiento neuropáticos, presión y úlceras de pie diabético, quemaduras superficiales y sitios de donantes de injerto de piel. También se puede aplicar en las heridas de espesor completo en combinación con injertos de piel y su limitación es en el tratamiento de heridas profundas (Moustafa et al., 2007; Zhu et al., 2005).

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Bioseed-S

Son cultivos autólogos sub-confluentes de queratinocitos resuspendidos en un sellador de fibrina. A la fecha ha sido usado principalmente para tratar úlceras de pierna venosa crónica, los ensayos clínicos han mostrado un aumento en la eficiencia de cicatrización de heridas en casi 50% en comparación con el tratamiento estándar(Vanscheidt et al., 2007). Aunque se tiene potencial de aplicación en quemaduras, no existe aún evidencia. Un estudio animal con material análogo, utilizando queratinocitos autólogos en sellantes de fibrina autóloga, aplicado a las heridas de espesor total, obtuvo una buena epitelialización (Grant, Warwick, Marshall, Green, & Martin, 2002).

CellSpray

CellSpray utilizan queratinocitos autólogos cultivados o no cultivados. Esta tecnología se basa en la posibilidad de cosechar queratinocitos sub-confluentes en su estado de proliferación más activo, seguido por su aplicación por pulverización en la herida, permitiendo hacer seguimiento in vivo de la proliferación y diferenciación celular hasta obtener una estructura epitelial reconocible(Chester et al., 2004). Es ampliamente utilizado en heridas de sitio de espesor parcial e injertos donantes, las heridas de espesor completo aún requieren un elemento dérmico para lograr la restauración de la piel funcional de manera permanente, adicionalmente su eficiencia y resultados a largo plazo para el tratamiento de quemaduras sigue siendo cuestionada (Wood, Kolybaba, & Allen, 2006).

Transcyte

El Transcyte es similar a Dermagraft en el diseño, ya que contiene los fibroblastos humanos del donante que han crecido en un andamio de poliglactina bioabsorbible recubierta de colágeno porcino, pero este producto también tiene una membrana de silicona adjunta para actuar como una barrera temporal (Integra). El Transcyte es

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

recomendado para uso en quemaduras importantes para proporcionar una alternativa dérmica y una barrera epidérmica temporal (Shelia MacNeil, 2008).

Xenoinjerto

El injerto xenogénico implica la transferencia de tejido entre especies, pero al igual que el trasplante alogénico se presentan problemas ante la posibilidad de rechazo del injerto. Algunos materiales utilizados como sustitutos de piel son:

Apligraf

El Apligraf es una matriz que contiene fibroblastos de colágeno bovino integrado con una hoja estratificada de epitelio humano, es morfológica, bioquímica y metabólicamente similar a la piel humana. Aunque el producto no causa rechazo inmunológico, las células alogénicas no sobreviven después de uno o dos meses in vivo (Griffiths, Ojeh, Livingstone, Price, & Navsaria, 2004). Ofrece a la herida componentes de la ECM, factores de crecimiento y citoquinas. Es utilizado para tratamientos de quemaduras de espesor parcial, genera cierre definitivo pero no puede ser utilizado de forma permanente y es necesario contar con un injerto autólogo de origen epitelial. El Apligraf es de fácil manejo y genera una buena curación. Como equivalente de piel humana puede realizar una o más funciones de cicatrización: puede servir como un apósito biológico que promueve la curación por intención secundaria, puede sanar la herida por toma de injerto y puede tener una acción farmacológica que estimula la curación por células receptoras (Eaglstein & Falanga, 1997).

Permacol

El Permacol está entrelazado con porcino y puede ser usado como vendaje de piel temporal. Este producto cutáneo descelularizado es similar al AlloDerm pero de origen

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

animal. Reduce los riesgos asociados a las enfermedades virales humanas que son transferibles, como VIH (Virus de la inmunodeficiencia humana) y HEPB (hepatitis B). La amplia disponibilidad de materias primas hace más fácil y barato su producción. El implante quirúrgico de Permacol es una descelularización de capa cutánea porcina que contiene fibras de colágeno y elastina. Se utiliza principalmente para la reconstrucción de la pared abdominal (en caso de hernias), especialmente cuando está presente una contaminación microbiana (Parker, Armstrong, Frizzi, & North, 2006). Su uso para la reconstrucción dérmica es limitada debido a su lenta biointegración y vascularización. Algunos ensayos clínicos de aplicación en tratamiento de quemaduras de espesor completo han mostrado resultados prometedores cuando es aplicado simultáneamente con injertos de piel (Ryssel, Gazyakan, Germann, & Ohlbauer, 2008).

OASIS matriz de herida

OASIS o matriz de herida es producido a partir del intestino delgado porcino y la submucosa. Es destinado a la estimulación de cierre de heridas agudas, crónicas y heridas por quemaduras. Es liofilizado y descelularizado para evitar las respuestas inmunológicas. Se han obtenido resultados positivos en ensayos multicéntricos controlados aleatoriamente para tratamientos de úlceras con tiempos más cortos de sanación (Mostow, Haraway, Dalsing, Hodde, & King, 2005). OASIS apoya la diferenciación epidérmica in vitro y la formación de membrana basal. Se ha evaluado in vivo como vendaje de herida de espesor completo en roedores con mínima contracción sin efectos de epitelialización. Aún no se ha publicado resultados de ensayos clínicos con respecto a su utilización en la herida de espesor completo (Shevchenko et al., 2010).

EZ Derm

El EZ Derm es un colágeno reconstituido de origen porcino que se entrelaza con aldehído para aumentar su resistencia a la tracción. El producto no debe estar incorporado en la herida y tiene que ser eliminado, por lo tanto, es comercializado

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

como un vendaje de herida bioactivo (Bello, Falabella, & Eaglstein, 2001). Una comparación de este aderezo con un apósito de gasa de vaselina nano-adherente para la atención de quemaduras de espesor parcial, revela las diferencias en la tasa de colonización bacteriana y el tiempo de curación de alivio del dolor.

Integra

Una plantilla de regeneración dérmica Integra, consiste en un componente dérmico poroso de bovino de colágeno tipo I y tiburón condroitín-6-sulfato glucosaminoglicano que está enlazado a una pseudo-epidermis de silicona. El componente dérmico se convierte en células de huésped, incluyendo los fibroblastos que contribuyen a la formación de neodermis mientras que se degrada el andamio del material y el componente pseudo-epidermal, protegiendo las heridas de la contaminación bacteriana y la pérdida de vapor (Shelia MacNeil, 2008). Este material es probado clínicamente con éxito en el manejo de las heridas por quemadura de espesor completo y de úlceras crónicas. Se está convirtiendo en un "estándar de oro" dérmico para sustituir biomateriales (Silverstein, 2006). Como ventajas presenta larga vida, fácil manejo, bajo riesgo de respuesta inmunógena y transmisión de la enfermedad y buenos resultados cosméticos con tasas reducidas de contracción y cicatrices. Es necesario una meticulosa preparación quirúrgica de la herida para garantizar una buena toma de Integra. No se puede utilizar en heridas infectadas, requiere un tiempo relativamente largo de 10 días para la vascularización y también requiere un segundo procedimiento quirúrgico para lograr el cierre permanente de la herida (Wood et al., 2007).

El colágeno

El colágeno es una de las proteínas más abundantes en la naturaleza y es el responsable de mantener la integridad estructural de los tejidos. En la piel están presentes principalmente, los sintetizados por los fibroblastos y los miofibroblastos. En

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

tejidos como piel, tendones y huesos, que se someten a esfuerzos cortantes y de tracción, el colágeno se organiza en fibrillas. El colágeno tipo I está presente en la dermis, fascias y los tendones y es un componente importante del tejido de la cicatriz. De los 20 tipos diferentes de colágeno, los colágenos I, II, III, V y XI se ensamblan para formar fibrillas. Otros colágenos forman redes, por ejemplo, colágeno IV, que es el componente principal de la membrana.

El colágeno humano se origina de la dermis humana, tiene el mismo origen (una única línea celular) y el mismo método de cultivo celular que el empleado para obtener tejidos que, por ejemplo, han sido usados durante años para tratar a los pacientes con quemaduras severas. De acuerdo con los fabricantes, al colágeno humano no es necesario realizarle pruebas cutáneas de alergia antes del tratamiento, dado que mantiene una inmuno-especificidad significativa. El colágeno en sí, presenta pocas reacciones secundarias, su comportamiento no es tan bueno como el de algunos ácidos hialurónicos pero es más fácil de usar.

La mayoría de los biomateriales en uso clínico se basan en el colágeno natural o extraído. El colágeno es el biomaterial favorito para ingeniería de tejidos, ya sea en forma humana de colágeno reticulado maduro (piel donante obtenida a partir de bancos de piel) o colágeno extraído de piel bovina o porcina. El colágeno ha sido utilizado en el diseño de sustitutos de la piel (Supp & Boyce, 2005) y recientemente se ha utilizado para crear un modelo de endotelio de la dermis, que promueve la reconstrucción espontánea de un capilar humano en forma de red (Metcalfe & Ferguson, 2007; Tremblay, Hudon, Berthod, Germain, & Auger, 2005).

Mientras los andamios de colágeno natural pueden funcionar bien, los problemas radican en los detalles de cómo son extraídos, procesados y esterilizados para ser aptos y de bajo riesgo para el paciente (Shelia MacNeil, 2008). El colágeno junto con otros materiales adicionales, permiten la regeneración del tejido epitelial y puede ser utilizado de diversas formas.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Colágeno hidratado de geles

En el tejido de piel, el colágeno abarca más del 70% del peso seco de la dermis. Los grandes paquetes de fibras de colágeno son sintetizados y organizados en la piel, in vivo e in vitro, por fibroblastos de la dermis que brindan apoyo a la estructura general. Estas observaciones han inspirado a los ingenieros de tejidos para desarrollar sustitutos cutáneos hidratados y anclados utilizando geles de colágeno hidratado y enmallado (Auger et al., 1998).

El primer equivalente de piel hidratada fue realizado por Bell et al., (2000) adicionando varias capas de epidermis a su equivalente dérmico. Sin embargo la contracción severa de este modelo lo restringió para herida in vivo. Posteriormente fue obtenido in vitro un equivalente de piel humana anclado con propiedades histológicas y biológicas adecuadas que fue injertado in vivo (López Valle et al., 1996). Este trabajo fue realizado con queratinocitos y fibroblastos cutáneos en sustitutos de colágenos de piel humana hidratada y permitió posteriores estudios biomecánicos de anclaje (Lafrance, Yahia, Germain, Guillot, & Auger, 1995).

El modelo de gel de colágeno inicialmente introducido por Bell et al (1981) ha sido modificado con aditivos de glucosaminoglicanos agregado a los geles de colágeno para estudiar sus efectos sobre la proliferación de células de la piel y la diferenciación. Se han introducido también metodologías basadas en sustitutos cutáneos producidos a partir de colágeno hidratado de geles simples para supervisar parámetros asociados con las propiedades funcionales de los tejidos sustitutos de piel in vitro, tales como análisis inmuno-hitológicos de la unión dermo-epidérmica de piel, incluyendo tipos IV, laminina, péñfigo ampolloso antígeno y colágenos VII. Los estudios han sido analizados en función del tiempo de cultivo y de las condiciones antes y después del injerto (Auger et al., 1998).

El fenómeno de contracción de tejidos es uno de los mecanismos encargados de la reparación de la herida, sea mediante la migración de fibroblastos encargados de la reorganización de la matriz extracelular o a partir de los miofibroblastos responsables de la contracción del tejido (Auger et al., 1998). Los geles de colágeno hidratado han sido bastante estudiados in vitro para uso en contracción de tejidos. Bell et al., (1979)

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

demonstraron que las células se pueden contraer en una red de colágeno estructurada, permitiendo el estudio de las propiedades de contracción de las células en un entorno similar a través de la ingeniería de tejidos de heridas equivalentes. La tasa de contracción ha demostrado que ésta depende del tipo de proteína en el gel (colágenos I, II o III, fibrina, entre otros), la concentración de proteína, la concentración de células y la presencia de activadores o inhibidores (Moulin, Auger, O'Connor-McCourt, & Germain, 1997).

El colágeno de gel hidratado tiene varias ventajas para aplicaciones clínicas. Es relativamente rápido para producir queratinocitos que pueden ser sembrados en el equivalente dérmico después de 4 días, y adicionalmente los dispositivos de anclaje permiten la producción de un área de superficie grande y constante para ser injertada. El uso de este material pionero para desarrollar ingeniería de tejidos de la piel, se ha extendido a la producción de otros tejidos, tales como los vasos sanguíneos, ligamentos y bronquios (Auger et al., 1998).

Colágeno Bovino

Los derivados del colágeno bovino, son hoy en día aprobados por la FDA (Administración de alimentos y medicamentos) y son percibidos como elementos de bajo riesgo. Sin embargo, depende de que los rebaños no hayan sido previamente expuestos a la Encefalopatía espongiforme bovina. El colágeno bovino, disponible en tiras y hojas como película o en polvo, es asequible y de fácil manejo. Tienen buena adherencia y excelente vascularidad. Su desventaja se centra en su falta de función de barrera y elasticidad y su incapacidad para prevenir la invasión bacteriana (Shelia MacNeil, 2008). El colágeno tipo I está presente en la dermis, fascias y los tendones y es un componente importante del tejido de la cicatriz. El colágeno se ha utilizado durante algún tiempo en el diseño de sustitutos de la piel y recientemente se ha utilizado para crear un modelo de endotelio de la dermis, que promueve la reconstrucción espontánea de un capilar humano como una red (Metcalfe & Ferguson, 2007).

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Colágena enriquecida

El proceso de cicatrización se apoya en el tejido conectivo encargado de generar las sustancias nutritivas y metabólicas necesarias para la reparación. Uno de estos elementos es la colágena localizada en la dermis con la función de ser soporte de la epidermis, permitiendo la unión de ambas capas y favoreciendo la oposición a tracciones. La colágena enriquecida (formación o agrupación de fibras de colágeno) favorece la coagulación, el crecimiento del tejido conectivo incluyendo a los folículos pilosos y las glándulas sebáceas, lo cual restablece la morfología microscópica de la piel y la hace favorable para su cicatrización (Suárez, Salgado, Zamira, & Krötzsch, 2004).

En el proceso natural de cicatrización, cuando no cierra la herida se incrementa la inflamación, aumenta la cantidad de componentes celulares y solubles estimulando los fibroblastos y miofibroblastos locales. Esto produce un depósito de matriz significativamente mayor que deriva en procesos fibrosos. El estudio realizado por Torres-Villaseñor, mostró como al utilizar colágena enriquecida se generó el restablecimiento de la epidermis con su epitelio plano estratificado queratinizado, folículos pilosos con pelo y la presencia de glándulas sebáceas rodeadas por fibras de colágena y fibroblastos.

La colágena viene siendo utilizada en medicina para reparar daños o traumas químico-mecánicos de piel o mucosas (por su biocompatibilidad y capacidad de promoción de cicatrización). En general, la colágena enriquecida favorece la regeneración íntegra de la piel en heridas profundas, permitiendo el restablecimiento total de ésta en un periodo no mayor a 45 días (Leon, 2006).

La fibroína

Las sedas son polímeros de origen natural que se han utilizado clínicamente como suturas durante siglos. La seda en su forma natural se compone de un núcleo de filamentos de proteínas, seda fibroína y un revestimiento similar al pegamento. Las sedas más estudiadas son el capullo de seda del gusano o seda *Bombyxmori* y la seda o

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

red de arrastre de la araña *Nephilaclavipes*. En los últimos años, la seda fibroína ha sido cada vez más estudiada para nuevas aplicaciones biomédicas debido a la biocompatibilidad, lenta biodegradabilidad y propiedades mecánicas que combinan peso ligero, alta resistencia y notable dureza y elasticidad (Rising et al., 2005), además de propiedades térmicas que les permiten ser procesadas en un amplio intervalo de temperaturas (Wong Po Foo & Kaplan, 2002).

Estructuralmente las sedas fibroína se caracterizan por ser copolímeros naturales compuestos por bloques hidrofóbicos que forman la base para la tracción o fuerza de la seda, que combinada con los bloques hidrofílicos menos ordenados, dan lugar a mayor elasticidad y dureza. Una vez formadas, las fibras de seda son insolubles en la mayoría de disolventes tales como agua, etanol, ácidos diluidos y bases, a menos que se utilice el ácido sulfúrico altamente concentrado, ácido fórmico, hexafluoroisopropanol (HFIP), nitrato de calcio o soluciones de LiBr (Haider, Megeed, & Ghandehari, 2004).

La seda fibroína en varios formatos (películas, fibras, redes, mallas, membranas, hilos, y esponjas) se utiliza para apoyar la adhesión de las células madre, la proliferación y diferenciación in vitro y para promover la reparación de los tejidos in vivo. En particular, las células madre basadas en la ingeniería de tejidos de seda con andamios de fibroína 3D ha expandido el uso de la seda a base de biomateriales como andamios prometedores para la ingeniería en una amplia gama de tejidos como cartílagos artificiales, fragmentos de tejido óseo, vasos sanguíneos, regeneración de tejido epitelial y regeneración del tejido nervioso óseos, así como los tejidos conectivos, entre ellos la piel (Kon'kov, Pustovalova, & Agapov, 2010). A la fecha, la seda fibroína *Bombyxmori* ha sido la principal fuente de seda estudiada a base de biomateriales. Sin embargo, la seda fibroína de las arañas y los formados a través de la ingeniería genética o la modificación de la secuencia química nativa de fibroína de seda, están comenzando a ofrecer nuevas opciones para ampliar aún más la utilidad de seda fibroína a base de materiales para aplicaciones médicas (Wang et al., 2007).

Uno de los principales problemas de los sustitutivos de la piel es su incapacidad para vascularizar. La fibrina asociada con fibronectina y apoyada por queratinocitos y

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

crecimiento de fibroblastos in vitro e in vivo, han demostrado aumentar la motilidad celular en la herida (Currie, Sharpe, & Martin, 2001). Cuando es utilizada como sistema de suministro para queratinocitos y fibroblastos cultivados, la cola de fibrina puede proporcionar ventajas similares a las probadas con los injertos de piel autóloga. La matriz de fibrina ha demostrado ser un vehículo de suministro adecuado para factores de crecimiento exógeno que pueden ser utilizado para acelerar la cicatrización de heridas (Gwak et al., 2005).

El quitosano

El quitosano se compone de una doble capa de hidrogel sin entrecruzamiento externo y es ampliamente utilizado en el campo de la biomedicina en encapsulación de células, entrega de la droga, cultivo celular, reparación de cartílago y reconstrucción de huesos (Boucard et al., 2007). En cicatrización de heridas, fue demostrado que el quitosano en la forma de una mezcla de algodón es un acelerador de cicatrización de las heridas por la activación e infiltración de las células polimorfonucleares en el sitio de la herida y ante la incorporación de factores básicos de crecimiento de fibroblastos, aceleró la tasa de curación (Mizuno et al., 2003). Este material es representado como un material ideal para la ingeniería de tejidos, fácil de manejar, transferir y aplicar. El quitosano y soluciones viscosas permiten a la dermis la unión dermo-epidérmica y la reconstrucción de la reepitelización del espesor de la piel (Boucard et al., 2007).

Hidrogeles de quitosano

Los hidrogeles de quitosano están constituidos por dos capas, con excelentes propiedades mecánicas y de densidad, y son materiales especialmente interesantes por su estructura química y física. El quitosano presenta alta favorabilidad en las respuestas biológicas. Sin embargo, la baja porosidad del quitosano se opone a cualquier transferencia física de las células vivas a lo largo de su estructura (Domard & Domard, 2001). La piel humana es una estructura compleja de tres capas donde la

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

epidermis es separada de la dermis por una membrana bien definida. El hidrogel físico de doble capa de quitosano es un material bio-inspirado que muestra algunas similitudes entre la piel y sus dos capas diferentes y separadas por una interfase, y adicionalmente es un biomaterial con propiedades mecánicas muy interesantes (Sechriest et al., 2000).

Numerosos estudios hablan de las pobres propiedades mecánicas de los injertos correspondientes a sustitos dérmicos o epidérmicos (Boucard et al., 2007). Problema que se ha intentado resolver a partir del cultivo de queratinocitos en membranas biosintéticas relativamente rígidas (Phan, Lim, Tan, Bay, & Lee, 2005). El biomaterial de hidrogel bi-capa es no celularizado y fácil de manejar, transferir y aplicar en las heridas. Cabe también mencionar que el hidrogel bicapa se utiliza desde el principio hasta el final de la curación.

MATERIALES SINTÉTICOS

Un beneficio compartido por todos los biomateriales sintéticos, es que reducen al mínimo el riesgo de transporte de patógenos biológico o contaminante. Los biomateriales sintéticos presentan varias características atractivas para las aplicaciones y liberación controlada de drogas, la reparación de tejidos y la ingeniería de tejidos (Lanza, Langer, & Vacanti, 2007b). El mayor beneficio de los biomateriales sintéticos es que pueden ser diseñados para satisfacer necesidades específicas. En algunos casos los biomateriales sintéticos están compuestos de polímeros de origen natural de pequeñas moléculas biológicas tales como aminoácidos.

Las unidades básicas de los biomateriales sintéticos muestran excelente compatibilidad fisiológica y citotoxicidad mínima, los productos de descomposición de biomateriales se derivan de las moléculas biológicas que pueden incorporarse recién sintetizadas o metabolizadas en el organismo hospedador (Holmes, 2002). Otros biomateriales sintéticos están compuestos de moléculas que no se encuentran in vivo como materiales cerámicos. Algunos de estos materiales (por ejemplo, materiales de

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

reemplazo de hueso y tejido epitelial) exhiben propiedades deseables como alta resistencia a la tracción.

Dentro de los materiales sintéticos, los más utilizados a nivel biomédico son los polímeros. Polímeros sintéticos como PGA, poli ácido láctico-co-glicólico (PLGA), PLLA (Poli ácido L-láctico), PLA, y algunos naturales como gelatina, colágeno o quitosano son excelentes candidatos para aplicaciones en ingeniería de tejidos especialmente en el área de la piel debido a su biodegradabilidad y facilidad de fabricación. Matrices utilizadas rutinariamente en aplicaciones terapéuticas están hechas de polímeros que a menudo son reabsorbidos o degradados por el cuerpo (Zhang & Webster, 2009). Sin embargo, la mayor adhesión, proliferación y difusión celular se da a través de los materiales naturales como colágeno y el quitosano que son generalmente hidrofílicos en comparación con andamios sintéticos que contienen su naturaleza hidrofóbica como los polímeros biodegradables (PLA, PLGA y PCL), además, los materiales naturales pueden tener características específicas de superficie que ayudan en el crecimiento celular (McCullen, Ramaswamy, Clarke, & Gorga, 2009).

Como desafíos para los ingenieros de materiales sintéticos con esta aplicación, tiene que ver por un lado con el hecho de que las primeras generaciones de polímeros degradables utilizados en ingeniería de tejidos epitelial fueron adaptadas de otros usos quirúrgicos, presentando deficiencias en sus propiedades mecánicas y de degradación (Griffith, 2002) y por otro lado, la importancia de la fabricación de polímeros para la construcción de andamios con formas específicas y una mejor arquitectura porosa interna que ayude al crecimiento del tejido directo (Griffith & Swartz, 2006).

Los polímeros biodegradables que comúnmente se mezclan para ajustar las tasas de degradación son el PGA y PLA. El PGA, debido a su naturaleza hidrofílica y baja cristalinidad, es sensible a su entorno y tiende a degradarse en soluciones acuosas. La adición de un grupo metilo, permite al PLA ser más hidrofóbico y se degrada más lentamente que el PGA. Los copolímeros de PLGA son amorfos y presentan rápidas tasas de degradación (Li, Cooper, Mauck, & Tuan, 2006).

Aunque las nuevas tecnologías surgen como herramienta para la fabricación precisa, de materiales de tamaño de poro definido por la película o las tecnologías de

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

impresión tridimensional (Seitz, Rieder, Irsen, Leukers, & Tille, 2005) y electrospinning (M. Li et al., 2005), igualmente, estos nuevos polímeros y sus productos de degradación también deben ser no tóxicos y no inmunogénicos.

Las matrices poliméricas nanoporosas o nanofibras pueden ser fabricadas a través de electrospinning, separación de fases, partículas de lixiviación, grabado químico o técnicas de impresión en 3D (Zhang & Webster, 2009). En la última década el electrospinning ha sido ampliamente utilizado para fabricar andamios de nanofibras de gran superficie (adhesión y crecimiento celular) y alta porosidad para la transferencia de nutrientes. El electrospun, a través de polímeros sintéticos como PLLA, PLGA y PCL, son citocompatibles y presentan propiedades mecánicas excepcionales, adaptables específicamente para aplicaciones en regeneración de tejidos. Los andamios más excepcionales con mayor elasticidad son los biopolímeros naturales como el colágeno y los polímeros sintéticos similares a los naturales que son: PLA, PGA, PLGA, PLLA (McCullen et al., 2009). Una desventaja importante de materiales sintéticos es la falta de reconocimiento celular, razón por la cual están siendo desarrollados procesos de fabricación que incorporan los biomateriales con adhesión célula-péptidos, conocidos por sus interacciones celulares.

Dado que los materiales sintéticos son elaborados con características específicas para construir los andamios que puedan soportar la ingeniería de tejidos. A continuación se realiza la descripción de los andamios fabricados con los diferentes materiales con sus características principales.

Andamios para ingeniería de tejidos

Andamios

Los andamios en ingeniería tisular pueden ser equivalentes artificiales naturales de ECM y son usados para inducir la regeneración de tejidos o reemplazar tejidos y órganos dañados (Griffith, 2002). Los andamios deben proporcionar una resistencia mecánica durante la curación en el estado inicial y la estructura altamente porosa

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

debe proporcionar un entorno ideal para la migración y proliferación de las células (Young-Kwon & Jung-Keug, 2010). La curación de una herida a través de un andamio se logra mediante el efecto sinérgico de las células y factores de crecimiento, todos los roles importantes para obtener el resultado esperado.

Idealmente, los andamios brindan: (1) apoyo a la adhesión celular, migración, interacciones célula-célula, proliferación y diferenciación celular; (2) biocompatibilidad con el sistema inmune del huésped donde se implementa la ingeniería tisular; (3) biodegradabilidad a una velocidad controlada para que coincida con la tasa de crecimiento del neot Tejido facilitando la integración de la ingeniería tisular en el tejido huésped circundante; (4) proporciona un soporte estructural para las células y neot Tejido formado en el andamio durante las etapas iniciales de post-implantación y (5) tienen opciones versátiles de procesamiento para alterar la estructura relacionando la morfología de los tejidos específicos según las necesidades (Wang et al., 2007).

Hoy en día, para los andamios tridimensionales en ingeniería tisular, se ha confirmado la importancia de estructuras porosas que permitan la reorganización, crecimiento y adhesión de células in vitro que proporcionan el espacio necesario in vivo. Las propiedades mecánicas son cada vez más reconocidas ya que proporcionan un soporte mecánico temporal con señales adecuadas para mantener el espacio de crecimiento de la matriz y restaurar rápidamente la función biomecánica de los tejidos (Gloria, De Santis, & Ambrosio, n.d.; Puppi, Chiellini, Piras, & Chiellini, 2010). El ideal es la construcción de un andamio que simultáneamente posea propiedades mecánicas óptimas con una estructura porosa de microambiente biocompatible (Wang, Wong, & Mao, 2010).

Diversos materiales naturales, incluyendo colágeno, ácido hialurónico seda y polímeros degradables sintéticos, tales como el PGA, PLA y PCL, han sido investigados extensamente por su capacidad para apoyar el crecimiento de las células. Sin embargo, estos andamios presentan problemas relacionados con propiedades mecánicas y biocompatibilidad. Además, durante las operaciones quirúrgicas, el andamio debe poder ser manipulado y suturado (Young-Kwon & Jung-Keug, 2010).

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Los biomateriales sintéticos como PGA y PLLA son los más utilizados en aplicaciones clínicas. Los materiales sintéticos permiten mejorar la biodegradación y el control de plasticidad de injertos preparados por materiales de la ECM de forma natural, pero también son menos biocompatibles. Por otro lado, los materiales naturales de la ECM, incluyendo gelatina, alginato, quitosano, hialuronato, colágeno, membrana amniótica y SIS (submucosa del intestino delgado), pueden ser menos adecuados dadas sus débiles propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas de materiales como el PGA son mejores que el colágeno, pero de menor biocompatibilidad (Hodde, 2002).

Todas estas razones entran a ser importantes en la construcción de andamios como soportes de ingeniería de tejido epitelial, razón por la cual se continúa incrementando la investigación en la respuesta de los diferentes materiales y la creación de nuevos materiales híbridos con los que fortalecer los ya creados.

Electrospun para ingeniería de tejidos

Electrospinning ha surgido como una técnica líder en la construcción de andamios de polímeros sintéticos y naturales para las aplicaciones en ingeniería de tejidos. El proceso de electrospinning ha sido conocido por muchos años en la industria textil y en la ciencia de polímeros orgánicos (Huang, Zhang, Kotaki, & Ramakrishna, 2003) y recientemente resurgió como una novedosa herramienta para generar andamios biomoleculares en ingeniería de tejidos (Buchko, Chen, Shen, & Martin, 1999). El electrospinning proporciona un mecanismo para producir andamios de nanofibras desde una variedad de materiales incluyendo polímeros sintéticos y proteínas naturales. La topología de estos andamios por electrospun imita estrechamente la matriz extracelular nativa. Las fibras con diámetros en el rango de varios micrómetros a menos de 100 nm tienen una superficie muy alta en relación con su masa, originando electrospun en 3D con muy alta porosidad. De esta manera, las matrices pueden ser fabricadas por electrospinning facilitando la adherencia y el crecimiento de las células y regulando la diferenciación celular.

| | | | |
|--|--|---------|--|
| | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

El electrospinning proporciona un enfoque eficaz para fabricar andamios a partir de materiales naturales y sintéticos para ingeniería de tejidos. Puesto que las fibrillas creadas por el electrospinning comprenden un componente estructural importante y diferenciador de la ECM in situ. Se puede suponer que los andamios ideales de ingeniería serán aquellos que emulen de manera óptima las propiedades mecánicas y bioquímicas de la naturaleza de la ECM específica. De allí, es necesario evaluar cómo las variaciones sistemáticas de un número de parámetros experimentales afectan al proceso de electrospinning y la formación de las fibras para la construcción de las mallas(Li et al., 2005).

Andamios de seda y células madre

Las células madre son un tipo de célula de auto-renovación que pueden diferenciarse de otras células. Las células base en ingeniería de tejidos deben ser fiables, que respondan adecuadamente en términos de morfología, proliferación y diferenciación de los tejidos específicos para andamios en biomateriales y otras señales biofísico/químicas. Las células madre embrionarias son capaces de dar lugar a tipos celulares de todos los linajes de tejidos. Sin embargo, sus aplicaciones en la ingeniería de tejidos se ven limitadas por la falta de comprensión fundamental, el control de su diferenciación hacia linajes específicos deseados del tejido in vitro e in vivo y por restricciones legales y de ética en torno a su uso para aplicaciones médicas. Sin embargo las células madre adultas son más aceptadas para aplicaciones clínicas, lo que las ha convertido en una fuente alternativa en ingeniería de tejidos(Wang et al., 2007).

Las células madre mesenquimal (MSC) por ejemplo, son células adultas procedentes de la médula ósea, pueden ser ampliadas y diferenciadas en células de diferentes tejidos incluyendo la médula ósea, periostio, membrana sinovial, músculo, tejido adiposo, pulmón, hueso, dermis y cartílago articular (Nathan et al., 2003). Tienen además el potencial de ser usadas en una amplia gama de aplicaciones terapéuticas a través de trasplante de células madre y uso de materiales autólogos, alogénicos o xenogénicos (Barry & Murphy, 2004)y han sido utilizadas para tratar una variedad de defectos y

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

enfermedades, incluyendo defectos de tamaño y segmentación ósea, espesor del cartílago, tendones y nervios(Wang et al., 2007).

La ingeniería tisular necesita un andamio que sirva como sustrato para las células sembradas y como un soporte físico que guie la formación del nuevo tejido. En la ingeniería de tejidos, los andamios tienen un efecto significativo sobre la proliferación y diferenciación de células madre. La aplicación de materiales, junto con tecnologías de células madre se cree que tienen un enorme potencial para aplicaciones en la regeneración de tejidos.

La mayoría de los investigadores utilizan técnicas de andamios que se componen de polímeros naturales o sintéticos. Los materiales sintéticos son atractivos debido a sus propiedades químicas y físicas (por ejemplo, la porosidad, resistencia mecánica), que pueden ser específicamente optimizados para aplicaciones particulares. Mientras los naturales por su parte presentan mejor biocompatibilidad, pero de bajas propiedades mecánicas. De los materiales naturales el más utilizado actualmente para soportes de células es el colágeno. Su seguridad in vivo se ha demostrado a través de las aplicaciones a largo plazo en la medicina clínica, cosméticos y alimentos. Por su parte en los materiales sintéticos los más usados son los andamios poliméricos, que dotados de una arquitectura interna de canales complejos, proporcionan porosidad, fijación celular y mantienen la función diferenciada, sin obstaculizar la proliferación. Idealmente, un andamio polimérico para ingeniería de tejidos debe tener como características: (a) apropiado para la superficie que promueven la adhesión celular, la proliferación y diferenciación, (b) biocompatible, (c) altamente poroso, con una elevada área superficial y volumen, con una red de poros interconectados para el crecimiento celular, el transporte de nutrientes y el flujo de residuos metabólicos y (d) propiedades mecánicas suficientes para resistir cualquier tensión in vivo(Minuth, Sittinger, & Kloth, 1998).

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Andamios 3D con gel de colágeno

El colágeno es un componente importante de la matriz extracelular como proteína biodegradable que puede ser extraída y purificada de los tejidos conectivos de los animales. Su función principal es mantener la integridad de los tejidos y proporcionar una resistencia apropiada. Como un apoyo estructural el colágeno ha demostrado proporcionar un entorno de crecimiento celular y se encarga de celdas organizadas naturalmente con características morfológicas (Wang et al., 2010). La naturaleza del colágeno es más compatible con las células que el PGA. Una cantidad alta de fibra de PGA puede causar respuesta inflamatoria. Sin embargo el estudio realizado por (Hosseinkhani & Hosseinkhani, 2009) muestra como una esponja creada con colágeno y PGA presento una mejor resistencia de comprensión y menor porcentaje de degradación.

El método de andamio de gel de colágeno 3D ha sido aplicado en la interfaz de aire-líquido a células ciliadas bronquial traqueal para ser analizado en una estructura de tejido epitelial ciliado (CET). Diversos desarrollos se han realizado alrededor de los sistema de cultivo de tejidos para estructura de tejido epitelial, con diferentes biomateriales como andamios, incluyendo colágeno (Tada et al., 2008), quitosano y gelatina (Hori et al., 2007).

El sistema de cultura de gel de colágeno 3D permite la inducción de ciliogenesis y proporciona soporte al mantenimiento, desarrollo, diferenciación y propagación para el crecimiento de cilios en el CET. El CET desarrollado por este sistema puede mantenerse durante meses con un protocolo de mantenimiento sencillo y simple. El enfoque en ingeniería de tejidos 3D al generar un cultivo de CETS con andamios de gel de colágeno y sistema de cultivo de tejidos ALI (interface aire-líquido) permiten el análisis y desarrollo de células ciliadas primarias. Los CETS son sistemas robustos y aparecen para preservar la integridad de los mecanismos de transducción de la señal celular mediada por el receptor presente in vivo. El mantenimiento de tejidos activos y funcionales en las células epiteliales durante un período prolongado, tiene potencialmente amplias aplicaciones en investigación de descubrimiento de drogas y toxicología en la piel(Wang et al., 2010).

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Las investigaciones que implican colágeno han inspirado la ingeniería de tejidos y el diseño de biomateriales ya que las fibrillas de colágeno y sus redes en general regulan y definen la mayoría de los tejidos. Las redes de colágeno forman una arquitectura muy bien organizada, en tres dimensiones para atrapar a otros ingredientes. El campo de la ingeniería de tejidos finalmente se concentra en gran medida en aumentar el control de colágeno en tejido nativo y en la manipulación continua de los biomateriales que lo soportaran (Young-Kwon & Jung-Keug, 2010).

Andamios de punto de malla con colágeno híbrido KMSs

Ciertos diseños de scaffold de malla de punto (KMSs) coinciden con las propiedades mecánicas del tejido nativo o dan lugar a propiedades mecánicas adecuadas, proporcionando una buena plataforma para el estudio de estas propiedades en la regeneración de tejidos. Algunos de los biomateriales trabajados son la seda y el PLGA (Dai, Kawazoe, Lin, Dong, & Chen, 2010). Algunos de los comportamientos ofrecidos por los KMSs en regeneración de tejidos y la actividad celular son: (1) poseen excelentes propiedades mecánicas, cambian la distribución de tensión y presión sobre los KMSs y mantienen las estructuras porosas 3D in vitro e in vivo; (2) las estructuras porosas bien mantenidas facilitan la difusión de nutrientes y la eliminación de residuos y ofrecen espacio suficiente para la migración celular y crecimiento vascular y (3) dado que las células existentes se adhieren a las áreas específicas en la superficie (SSA) alrededor de los poros, las propiedades mecánicas pueden afectar la distribución de estas SSAs manteniendo estructuras porosas, regulando el comportamientos celular y la formación de tejidos (Xu et al., 2010). Los tejidos de malla y sus KMSs poseen estructuras de bucle altamente ordenadas y propiedades mecánicas versátiles que pueden proporcionar suficiente espacio conectivo interno para el crecimiento del tejido (Wang et al., 2007).

Algunos estudios sugieren que puede existir una importante relación sinérgica entre la microestructura 3D y las propiedades mecánicas, con la regulación de la actividad celular en el proceso de regeneración de tejidos inducido por el andamio (Murphy & O'Brien, 2010). Inicialmente, los biomateriales que constituyen la malla de punto

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

fueron considerados como inertes y poco a poco, la biocompatibilidad y regeneración de tejidos a partir de biomateriales se convirtieron en características importantes. Comenzaron a observarse como las propiedades mecánicas de los andamios afectaban significativamente el comportamiento de la celda y la bioactividad del andamio y a partir de allí la mejora de las propiedades mecánicas no es sólo un tema de laboratorio, sino también un gran reto para la investigación de aplicación clínica (Harley, Leung, Silva, & Gibson, 2007).

Para la fabricación de este tipo de mallas se prefieren los materiales procedentes de derivados naturales con buena biocompatibilidad por ejemplo, fibras de seda, pero con la desventaja de no ser adecuados para la siembra celular. Por lo tanto, en la práctica se suelen combinar el uso de mallas de punto con diversos biomateriales para la obtención de andamios KMSs. La esponja de polímero sintético, trenza, fibras y mallas tejidas sirven como un "esqueleto" para reforzar todos los andamios, mientras que el colágeno o seda de esponja proporcionan a los andamios estructuras porosas. Sin embargo, material poroso sintético preparado para aplicaciones de ingeniería puede mostrar excelente elasticidad y resistencia de cizalladura para sutura (Xu et al., 2010). Andamios retorcidos o trenzados pueden presentar notables propiedades mecánicas que son comparables al tejido nativo, pero su espacio interno limitado a menudo obstaculiza el crecimiento de neo-tejido (Chen et al., 2008).

En general los estudios de andamios de colágeno-quitosano han demostrado que esta combinación presenta buena biocompatibilidad y estructuras porosas adecuadas para la ingeniería de tejidos, pero con deficiente resistencia mecánica. Con el fin de mejorar las características mecánicas del andamio se han utilizado andamios porosos híbrido con PLGA, PLACL, colágeno de ácido hialurónico (CHA) y derivados naturales de colágeno bovino con buena biocompatibilidad, altas propiedades mecánicas, buena distribución, proliferación celular in vitro, buena respuesta del tejido in vivo y algunas combinaciones llegaron a la inhibición de contracción de herida de forma similar a los autoinjertos (Ananta et al., 2009).

La malla de punto ha mostrado mejorar la resistencia mecánica de los andamios y ser 'esqueleto' de injertos para mantener una microestructura porosa, promoviendo la

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

alineación de celdas e induciendo la regeneración de tejidos. El uso de una malla punto está siendo examinado para aplicaciones en ingeniería de tejidos relacionadas con reparación de ligamentos, tendones, cartílagos, piel y vasos sanguíneos (Xu et al., 2010).

Andamios en colágeno híbrido PLGA

El colágeno puede ser utilizado solo o en combinación con otros componentes de matriz extracelular como factores de crecimiento de glucosaminoglicano o para mejorar la proliferación y el crecimiento vascular proporcionando un sustrato para la regeneración epidérmica. Sin embargo, los andamios basados en colágenos presentan una rápida absorción y baja resistencia mecánica. Los Polímeros sintéticos biodegradables tales como PLA, PGA, PLGA y PCL también han sido utilizados como matrices para la regeneración de la piel.

Materiales como el PLLA, PEG y PBT (poli butileno tereftalato) apoyan la proliferación de queratinocitos y fibroblastos dérmicos humanos. Las mallas poliméricas sintéticas demuestran buena biocompatibilidad, buenas propiedades mecánicas y son de fácil manejo. Sin embargo, los andamios de polímero sintético tienen problemas de hidrofobicidad superficial y pérdida de células sembradas (Chen et al., 2005).

El estudio de Chen et al., (2005) evaluó la combinación de estos materiales con el objeto de unir las ventajas de cada uno de ellos, en su estudio encontró como la malla de colágeno híbrido y PLGA biodegradable, promovió los fibroblastos, la adherencia y crecimiento celular con producción de ECM, resultando un tejido dérmico de formación rápida. Las células de fibroblastos fueron más homogéneamente distribuidas (con efectos de protección a la contracción del tejido durante la formación del nuevo) y proliferaron más en la malla híbrida que en la malla de PLGA. Los fibroblastos más adheridos proliferaron más rápidamente en la malla híbrida que en la malla punto de PLGA. Las microesponjas de colágeno en malla híbrida facilitan la distribución celular, uniforme en la celda y, por tanto, la formación de tejido homogéneo de la dermis. Encontraron que el punto de malla PLGA, refuerza la malla

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

híbrida, su integridad se mantiene en el tejido formado y resultó de más fácil manejo. La malla de colágeno híbrido de PLGA se sugiere como buen candidato para andamios porosos en ingeniería de tejidos de la piel (Chen et al., 2005).

Andamios con fibroína combinada

La aplicación de andamios basados en fibroína ha llegado a obtener desarrollo de segmentos artificiales con la misma estructura de la piel nativa y con reparación de lesiones en experimentos in vivo. El segmento creado se aproxima a la piel natural por su estructura y sus funciones, se obtiene bajo electrospinning utilizando películas de fibroína que se siembran en los fibroblastos de la dermis humana. La seda fibroína se ha utilizado como material de recubrimiento para andamios poliméricos diseñados para el cultivo de células en ingeniería de tejidos y se ha comenzado a combinar con materiales sintéticos. Cai et al. (2002) realizó un recubrimiento poli (D, L-láctico) con películas de seda fibroína encontrando mejor interacción entre los osteoblastos y las películas de polímero. Chiarini et al., (2003) por su parte examinó el efecto de la seda fibroína en revestimientos de sustratos 2D poli (carbonato)-uretano encontrando que el recubrimiento de seda fibroína mejoró la adhesión celular, incremento la proliferación y aumento la absorción de la glucosa. Adicionalmente los fibroblastos sembrados no secretaron niveles apreciables de algunas citosinas implicadas en la inflamación y reparación del tejido (Cai et al., 2002; Chiarini, Petrini, Bozzini, Dal Pra, & Armato, 2003).

Andamios de PEGT/PBT

La solución ideal para sustitutos de piel sería aquella que proporcione un componente dérmico y uno epidérmico diferenciados, esto como un requisito para el control de la pérdida de fluidos y como barrera que impida la penetración de bacterias. Algunos métodos han llevado a la creación de equivalentes de piel de espesor completo utilizando diferentes sustitutos cutáneos basados en materiales biológicos como colágeno y fibrina o materiales sintéticos como PLA/PGLA. Sin embargo al llevar la piel

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

hasta los pacientes se ha observado que el crecimiento interno de las estructuras vasculares es lento en la componente dérmica y que a menudo se logra solo hasta la segunda operación en la que al parecer los equivalentes epidérmicos se trasplantaron para lograr el cierre de heridas (Dantzer & Braye, 2001).

Ghalbzouri et al (2004) diseñaron equivalentes de piel humana (SSMS) con copolímeros biodegradables segmentados PEGT/PBT (poli tereftalato de etileno/politereftalato de butileno). Este polímero biocompatible fue desarrollado por primera vez como sustituto dérmico de dos capas que combina un PEGT/PBT. Los resultados encontrados en un modelo de herida de rata, mostraron que los queratinocitos sembrados en la densa capa de superior fueron capaces de regenerar una epidermis (Beumer et al., 1993), pero con lenta degradación de las matrices después de la implantación subcutánea del andamio PEGT/PBT. El estudio de Ghalbzouri et al (2004) demostró que el sustituto dérmico poroso PEGT/PBT y las láminas epidérmicas cultivadas (CES) podrían combinarse para generar un equivalente de piel humana (HSE) en medio libre de suero y con factores de crecimiento exógenas. Cuando los poros de este andamiaje se llenaron con fibroblastos y/o colágeno, el HSE se generó por la siembra directa de queratinocitos en la parte superior del equivalente dérmico. Este copolímero presentó como ventaja que durante el período de cultivo el sustituto dérmico no se contrajo y la matriz fue de fácil manejo. Una ventaja adicional del sustituto poroso sintético es que el tamaño de poro y la morfología pueden optimizarse para permitir el rápido crecimiento de los buques y a la formación de cicatrices de control (El-Ghalbzouri, Lamme, Van Blitterswijk, Koopman, & Ponec, 2004).

Nano-andamios en ingeniería de tejidos

El electrospinning es una técnica comúnmente utilizada para la fabricación de andamios en ingeniería de tejidos. Es una técnica fácil, extremadamente barata y que puede ser aplicada en muchos tipos de polímeros. Al parecer, fibras artificiales a nanoescala tienen gran aplicación potencial en el campo de los biomateriales y la ingeniería tisular (Hosseinkhani & Hosseinkhani, 2009).

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Informes iniciales han mostrado que las características a nanoescala influyen en el comportamiento celular. Se ha encontrado que topografía de superficies nanométricas promueven la adherencia, proliferación, la actividad de la fosfatasa alcalina, y la secreción de ECM en osteoblastos, a medida que se disminuye el diámetro de la fibra y se ha supuesto que la superficie nanométrica afecta la conformación de proteínas de adhesión que afectan a los comportamientos celulares. Existen tres enfoques diferentes que apuntan a la construcción de nanofibras y estos son: separación de fases, electrospinning y auto-ensamblaje. La separación de fases y auto montaje de biomoléculas pueden generar pequeñas nanofibras de diámetro en la misma gama de ECM natural, mientras que electrospinning genera nanofibras de gran diámetro en el extremo superior de la gama de ECM naturales (Smith, Liu, & Ma, 2008).

Nano-partículas de plata

Las propiedades antimicrobianas del amplio espectro de la plata, han fomentado su uso en aplicaciones biomédicas, el agua y la purificación del aire, producción de alimentos, cosméticos, ropa y muchos productos domésticos. Con el rápido desarrollo de la nanotecnología, las aplicaciones se han ampliado aún más y ahora la plata es el nanomaterial artificial más comúnmente utilizado en los productos de consumo (Marambio-Jones, Catalina Hoek, 2010).

Las nanopartículas de plata han demostrado ser efectivos biocidas contra bacterias, hongos y virus. Nanocompuestos híbrido de plata con dendrímeros y polímeros, y la plata como material nanoporoso, se presentan también como efectivos antibacterianos. A pesar de la gran cantidad de documentos de reventa de los efectos beneficiosos de antimicrobianos de nanomateriales plateado, muchos estudios se dirigen hacia los mecanismos por los cuales los nanomateriales plateado ejercen esta actividad antimicrobiana.

Además del amplio espectro de efectos antimicrobianos, las nanopartículas de plata han producido efectos tóxicos en las líneas de células superiores como los peces cebra,

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

almejas, ratas y seres humanos. Pruebas en roedores demuestran que después de entrar en el cuerpo las nanopartículas de plata pueden acumularse y, en algunos casos, dañar los tejidos, como el hígado, los pulmones y los bulbos olfativos o penetrar la barrera hematoencefálica. Un estudio en células humanas llegó a la conclusión de que la plata puede ser genotóxico (Arora, Jain, Rajwade, & Paknikar, 2008).

Las diversas formas de nanomateriales de plata están entre los más prometedores agentes antimicrobianos elaborados con nanotecnología, pero la evidencia preliminar de los efectos sobre las alertas de los organismos superiores deben permanecer prudentes de su utilización generalizada (Marambio-Jones, Catalina Hoek, 2010).

Diversos biomateriales han sido utilizados como sustitutos de la matriz dérmica, incluyendo colágeno tipo I, dermis humana acelular, matriz de glicosaminoglicano de colágeno, plasma humano y pegamento de fibrina (intervasculares). Sin embargo, ha continuado la búsqueda de una matriz ideal que sea fácilmente disponible y económica que apoye el crecimiento de células mesenquimales, mejore la proliferación y adhesión de células epidérmicas y que tenga buenas propiedades mecánicas, inmunogenicidad baja y mínima toxicidad (Yang et al., 2009).

Investigaciones anteriores revelan que los factores de crecimiento y las ECMs son importantes, pero también es evidente que la estabilidad de la estructura tridimensional es esencial. Los sustratos de colágeno o ácido hialurónico juegan un papel importante en la mejora de la proliferación y adherencia de la célula. Los materiales naturales muy bien conocidos por su biocompatibilidad contienen secuencias RGD (Acido arginina-glicina-aspártico) y así han sido utilizados en una serie de tratamientos clínicos, tales como piel artificial, huesos, cartílagos, materiales de forma inyectable, etc. Sin embargo, las propiedades físicas son muy pobres, por lo tanto los sustratos son insuficientes para el rodamiento necesario de las cargas mecánicas. Por lo tanto, los compuestos de andamios, como estructuras reforzadas con PGA, PLA, PCL monómeros o polímeros, seda o quitina, son desarrollados y muestran fuertes propiedades mecánicas y físicas. Los resultados anteriores sugieren que la reconstrucción de tejidos mediante un andamio degradable es factible y los

| | | | |
|--|--------------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

andamios compuestos reforzados pueden ser muy útiles para reparar diversos tejidos afectados en pacientes (Young-Kwon & Jung-Keug, 2010).

4.4 RETOS

Cuando el grosor de la piel es gravemente dañado, los mamíferos son incapaces de regenerarse de forma espontánea. Así, para la creación de un sustituto de la piel funcional, se debe realizar una recapitulación completa de ontogénesis que debe ocurrir y ser posible in vitro (Supp & Boyce, 2005). Sin embargo, el fenotipo expresado por las células de piel humana en el cultivo es fisiológicamente parecido a la cicatrización de heridas, que incluye citogénesis, morfogénesis e histogénesis, pero no organogénesis. De donde, el reto no es sólo las células que pueden guiarse a seguir el proceso de cicatrización de la herida, sino también, que permita conducir los procesos de la regeneración y desarrollo (Metcalf & Ferguson, 2007), hecho que hace tan complejo la creación de piel artificial completa con todas las características funcionales.

Aunque la literatura presenta componentes individuales de la piel con cultivos y trasplantes exitosos, estos no son aun parte de una sustitución de piel completamente funcional. En algunos estudios las células conectivas de los tejidos se cree que repueblan los injertos del lecho de la herida, pero muchos de los sustitutos de la piel contienen fibroblastos dérmicos para facilitar estos procesos de reparación. Los melanocitos soportados por diversos andamios también han sido utilizados para repoblar cicatrices de quemaduras y para el tratamiento del vitíligo. Sin embargo, la restauración completa de la sensibilidad de la piel no ha sido demostrada y los injertos de piel de espesor dividido o glándulas sudoríparas y sebáceas, sólo se han trasplantado experimentalmente. Las glándulas sudoríparas y sebáceas, junto con los nervios y vasos sanguíneos, pueden resultar en un reto, ya que incluso con autoinjertos de piel estas no son ni restauradas ni regeneradas (MacNeil, 2008).

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

A la fecha, el enfoque ha sido hacia la creación de una forma muy sencilla de sustitutos epiteliales con las poblaciones de células de la piel. Para la repoblación de las heridas y restauración estructural de la piel se requieren un gran número de células de parénquima, poblaciones de queratinocitos y cultivos de fibroblastos en cantidades relativamente grandes a través del período de dos a tres semanas. Una base fundamental para la generación de la piel sustituta parte del rápido crecimiento de las células cultivadas. Cuando las células de la piel son preparadas en cantidades suficientes, es necesario organizar y recrear en el sustituto, el componente anatómico y la posición de la piel normal. Los fibroblastos que forman la mayoría de los sustitutos dérmicos degradan lentamente el biopolímero y su propia ECM. Los queratinocitos y fibroblastos producen una amplia variedad de citocinas, incluyendo varios factores de crecimiento y de inflamación. Así, las células interactúan estimulando mecanismos de iniciación de proliferación celular, tales como la insulina, factores de crecimiento y derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante y factor de crecimiento de fibroblastos básico. Todos ellos importantes a la célula, el proceso de la curación de herida y regeneración de los tejidos.

A pesar de los grandes avances en el área, aún se encuentran problemas por resolver en la ingeniería de tejido de piel sustituta que tiene que ver con vascularización, cicatrización, ausencia de estructuras diferenciadas, retrasos en cultivos celulares, biocompatibilidad y resistencia mecánicas, célula fuente y desarrollo, y seguridad, que se abordan brevemente a continuación (Metcalf & Ferguson, 2007).

Vascularización: Cuando un injerto de piel es colocado sobre una herida, este debe contar con un suministro de sangre suficiente que logre mantener la supervivencia y la integración con el tejido del huésped a largo plazo. Algunos sustitutos de piel existentes no permiten la angiogénesis, dejando un espacio de investigación, sobre todo en los casos en que la vascularización no es lo suficientemente rápida, ya que la incapacidad de los sustitutos a "tomar" lleva a las células a la muerte. En un estudio realizado por O'Ceallaigh et al., (2006) se encontró que los sustitutos de la piel con vasos prefabricados, pueden vascularizar más rápidamente en una forma similar a los injertos de piel autólogos.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Cicatrización: En el contexto de un injerto de piel y la sustitución, la cicatrización en los bordes del injerto es problemática a nivel funcional, mecánico y estético. El tejido cicatricial no es idéntico al del tejido que sustituye y es por lo general de menor calidad funcional. Por ejemplo, las cicatrices en la piel son menos resistentes a la radiación ultravioleta y las glándulas sudoríparas y folículos pilosos no vuelven a crecer en el tejido cicatricial. Algunos sustitutos de piel actualmente disponibles sufren problemas de cicatrización en los márgenes del injerto. La próxima generación de sustituto de piel debe incorporar tecnologías anti-cicatrices para hacer frente a este problema (Metcalf & Ferguson, 2007).

Ausencia de estructuras diferenciadas: Los sustitutos de bioingeniería de la piel suelen ser relativamente sencillos de solo la capa o estructuras bicapa. Si la "toma" es exitosa, el sustituto ofrece una función de barrera similar a la piel normal. Sin embargo, existe una falta de control de la temperatura en la piel normal por las glándulas sudoríparas, sebáceas y folículos pilosos. Adicionalmente, aunque se dispone de sustitutos, el aislamiento y el suministro vascular adecuado desde el tejido adiposo no existe. Los sustitutos de melanocitos de la piel no solo carecen de pigmentación epitelial, sino que no tienen suministros nerviosos lo que elimina la sensación de temperatura y presión. Por otro lado las pieles sustitutas no tienen células de Langerhans para desempeñar funciones de regulación inmune de la piel. Un hecho fundamental para mejorar la sustitución de la piel presente es la terapia y la elaboración de estrategias para incorporar o inducir estructuras diferenciadas en construcciones de piel.

Uno de los ejemplos más notables de organogénesis a partir de tejido adulto en el cultivo esta descrito por Zheng et al. (2005), donde se inyecta una mezcla de células aisladas neonatales dérmicas con agregados en la dermis y epidérmicos de ratones desnudos. Estos son capaces de interactuar y experimentar el pelo normal relativamente morfogenético dando lugar a los folículos pilosos dentro de 8 y 12 días. El caso permite acercarse a celebrar una gran esperanza en el futuro sobre la incorporación de estructuras diferenciadas en una nueva generación de sustitutos de la piel (Zheng et al., 2005).

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Retrasos en cultivos celulares: Las células de los componentes de la epidermis y la dermis pueden tomar entre dos y tres semanas para ampliarse suficiente del injerto propósito. Este problema es altamente evaluado en muchos de los sustitutos de la piel comerciales. Los nuevos desarrollos de protocolos para una rápida ampliación celular ayudarían a aliviar estos problemas, principalmente en pacientes gravemente heridos.

Propiedades de biocompatibilidad, mecánicas y de manipulación: Uno de los requisitos de la bioingeniería de piel es ser biocompatible, es decir, se apoya y apropia de la actividad celular, incluyendo la facilitación de técnicas moleculares y mecánicas en las cascadas de señalización, a fin de optimizar la regeneración de tejidos, sin genera respuestas indeseable como la inflamación crónica. Adicionalmente los sustitutos de la piel deben tener propiedades mecánicas adecuadas para el manejo duradero de la piel, de tal forma que permita a los médicos una mejor manipulación en un entorno quirúrgico. Actualmente la arquitectura y propiedades mecánicas de los sustitutos de la piel son completamente planas a diferencia de la piel normal.

La célula fuente: En las células de abastecimiento para un sustituto de la piel, existen esencialmente tres ubicaciones o tipos de donde las células pueden ser derivadas: local, sistémica y las posiciones progenitoras de células. Las células de origen local son los fibroblastos, queratinocitos, melanocitos, los adipocitos y el folículo piloso. Las células sistémicas son poblaciones de células que son residentes en el sistema de sangre o médula ósea, un ejemplo de esto son los fibrocitos, que juegan un papel clave en la cicatrización de heridas de piel (Abe, Donnelly, Peng, Bucala, & Metz, 2001; Bucala, Spiegel, Chesney, Hogan, & Cerami, 1994). Las células progenitoras también residen localmente en nichos de células madre como el folículo del pelo, son residentes en la médula ósea o podría surgir de células madre embrionarias (ES) de células cultivadas in vitro.

Desarrollo, seguridad y costos de los productos: Las primeras etapas de inclusión de nuevos productos de ingeniería de tejidos al mercado es un ejercicio costoso, que ha llevado a la quiebra a pequeñas empresas. Adicional a esto se debe tener en cuenta el costo de la investigación y el proceso de desarrollo, la seguridad del producto, los ensayos, almacenamiento, la vida útil y finalmente, el costo de producción,

| | | | |
|--|--------------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

comercialización y venta del producto. Continuamente se encuentran nuevos y mejores desarrollos en relación a los replazos de la piel de bioingeniería. Se tiene la plena esperanza de que muchos de los problemas mencionados puedan ser superados con los avances en la investigación y el desarrollo de las tecnologías.

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

5. CONCLUSIONES, RECOMENDACIONES Y TRABAJO FUTURO

Del trabajo se lograron identificar los principales biomateriales comerciales y más utilizados para el tratamiento de daños en el tejido de la piel. Se encontró que los materiales naturales aunque presentan buen funcionamiento, su problema radica en el modo de extracción, procesado y esterilizado. Los biomateriales identificados como de mayor uso clínico son los basados en colágenos naturales o extraídos y el quitosano. Los primeros facilitan la difusión de moléculas solubles intercelulares dentro de una estructura, permiten el proceso de ciliogénesis, mantienen la integridad de los tejidos y proporcionan resistencia adecuada en un entorno de crecimiento celular. Se encontró también que el colágeno presenta buena adherencia y excelente vascularidad, favorece la regeneración íntegra de la piel en heridas profundas, permitiendo el restablecimiento total en un tiempo corto. Sin embargo estos materiales carecen de una función de barrera y elasticidad. El quitosano por su parte es muy utilizado para tratamientos de quemaduras de tercer grado, es ideal para la ingeniería de tejidos por su fácil manejo en aplicaciones en heridas y soluciones viscosas que permiten a la dermis una excelente propiedad mecánica y la unión dermo-epidérmica en la reconstrucción de la reepitelización del espesor de la piel.

Los biomateriales sintéticos por su parte abarcan los diferentes polímeros biodegradables como el PCL, PLLA, PLGA, PGA y PLA. Estos presentan un excelente control de la composición de lote y sus propiedades físicas, y son excelentes candidatos para aplicaciones en ingeniería de tejidos especialmente en el área de la piel debido a su biodegradabilidad y facilidad de fabricación. Sin embargo, no contienen ninguna de las señales moleculares que son tan relevantes en la dirección o destino de la actividad celular. El uso de andamios sintéticos para biomateriales es más ventajoso que el de los andamios biológicos ya que se eliminan los riesgos de transmisión de la enfermedad, influyen la adhesión celular, diferenciación y migración

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

de los tipos de células específicas para crear tejidos artificiales, mientras que los biomateriales de origen animal pueden llevar patógenos peligrosos.

El electrospinning es hoy en día ampliamente utilizado para la fabricación de andamios de nanofibras de gran superficie con alta porosidad, adhesión de nutrientes y excelentes propiedades mecánicas adaptables para aplicaciones específicas. Los andamios poliméricos creados deberán garantizar una buena adhesión y proliferación celular, facilitando una distribución homogénea de las células que promueva la formación del tejido de la piel. Los materiales poliméricos permiten mejorar la biodegradación y el control de plasticidad de injertos preparados por materiales de la matriz extracelular de forma natural, pero también son menos biocompatibles. Las propiedades mecánicas de PGA son mejores que el colágeno, pero la biocompatibilidad del PGA no es tan buena. El PGA puede aumentar la proliferación celular y posteriormente inducir una reacción inflamatoria.

Las nanopartículas de plata están entre los más prometedores agentes antimicrobianos ya que pueden destruir directamente algunas bacterias en la membrana celular. Las partículas ejercen una actividad bactericida predominantemente a través de la liberación de iones de plata seguido de la permeabilidad de la membrana. Las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas mejoran la biocompatibilidad, conduciendo a una mayor atención centrada en las aplicaciones médicas especialmente en la regeneración de la piel.

Existe una gran variedad de biomateriales y nanomateriales para aplicaciones en ingeniería de tejido epitelial. A través de la caracterización realizada se encuentran más de cincuenta materiales de los cuales siete de ellos son convenientes para la regeneración del tejido epidérmico como lo es el colágeno, quitosano, andamios, fibroína e injertos, materiales poliméricos y nanopartículas de plata. Es complejo hablar de un material en particular ya que ninguno cumple a la perfección las propiedades de la piel, sin embargo existen biomateriales y nanomateriales que llegan a cumplir en parte con este compromiso. A veces es necesario trasplantar la piel total o parcialmente en longitudes cortas o largas y dependiendo de las propiedades que se

| | | | |
|---|--|---------|--|
|  | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

perdieron en el momento del daño del tejido, para ello es esencial la utilización de los materiales mencionados según sea el caso.

El objetivo último de la ingeniería de tejidos de la piel es producir rápidamente una construcción que ofrezca una regeneración completa de la piel funcional, incluyendo todos los apéndices de la piel (folículos pilosos, glándulas sudoríparas y órganos sensoriales), las capas (epidermis, dermis y grasa subcutánea) y el establecimiento vascular y funcional de los nervios sin cicatrices (vascularización), en el entorno del tejido anfitrión. Tal construcción debe permitir que la piel cumpla con sus funciones normales como: la formación de la barrera; pigmento de defensa contra la radiación UV; la termo regulación y las funciones mecánicas y estéticas. Sin embargo, los sustitutos artificiales de la piel disponibles para uso clínico, no cumplen totalmente con los criterios funcionales de este órgano y aquellos que se integran bien, a menudo presentan problemas de cicatrización en los márgenes del injerto.

El desarrollo de nuevos materiales y las mejoras de aquellos que ya están constituidos permitirán en un futuro trasplantar un injerto de piel con menos riesgo de infección, biocompatibilidad, dolor y toxicidad, permitiendo la rehabilitación exitosa de un paciente en menos tiempo y mitigando el traumatismo ocasionado por la lesión o pérdida del tejido. De igual forma es necesario fomentar la realización de estos materiales en Colombia, para llevar a cabo una mejor calidad de vida en pacientes que poseen problemas o pérdidas de la piel.

Un tejido de malla artificial, posee muchos factores alterables, por ejemplo, que material se va a tejer, que técnicas utilizaran y que características debe tener el tejido. Con respecto a la situación actual de la aplicación de la malla para ingeniería de tejidos, son necesarios más estudios para optimizar biomateriales tejidos, desarrollar métodos de tejido adecuado para preparar mallas biomiméticas de distintos tejidos y órganos diana, coincide con las tasas de degradación y neo-tejido formación de la malla. Además, aunque las estructuras de tejidos existen en varias formas en la industria textil, las estructuras tejidas aplicadas a la ingeniería de tejidos son en el período infantil. La posible razón puede ser que la estructura ha sido seleccionada para obtener mejores funciones en lugar de por sus apariciones.

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

REFERENCIAS

Páginas web consultadas:

National Cancer Institute. NCI Alliance for nanotechnology in cancer. [En línea] [Acceso Enero de 2012]: <http://nano.cancer.gov>

Nanomedicine, Nanotechnology, Biology, and Medicine. [En línea] [Acceso Enero de 2012]: <http://www.nanomedjournal.com/>

Nanomedicinecenter.com, Nanomedicine, Bionanotechnologies. [En línea] [Acceso Febrero 2012]: www.nanomedicinecenter.com

International journals of nanomedicine. [En Línea] [Acceso Febrero de 2012]: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2426787/>

NIH Roadmap: Nanomedicine 2004, NIH, USA. [En línea] [Acceso Febrero de 2012]: <http://nihroadmap.nih.gov>

The Royal Society and Royal Academy of Engineering, UK (2004) Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties [En línea] [Acceso en Marzo de 2012]: <http://www.nanotec.org.uk/finalreport.htm>

Centro Médico Rusinol, (2012) La piel, como cuidarla en verano y como recuperarla después [En línea] [Acceso Febrero de 2012]: <http://rusinol.com/blog/la-piel-como-cuidarla-en-verano-y-como-recuperarla-despues/>

Creative commons open science. [En línea] [Acceso Enero de 2012]: <http://creativecommons.org/>

Referencias bibliográficas:

Abe, R., Donnelly, S. C., Peng, T., Bucala, R., & Metz, C. N. (2001). Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 166(12), 7556–62.

Ahsan, T., & Nerem, R. M. (2005). Bioengineered tissues: the science, the technology, and the industry. *Orthodontics & craniofacial research*, 8(3), 134–40. doi:10.1111/j.1601-6343.2005.00326.x

Ananta, M., Aulin, C. E., Hilborn, J., Aibibu, D., Houis, S., Brown, R. A., & Mudera, V. (2009). A poly(lactic acid-co-caprolactone)-collagen hybrid for tissue engineering applications. *Tissue engineering. Part A*, 15(7), 1667–75. doi:10.1089/ten.tea.2008.0194

Andreassi, A., Bilenchi, R., Biagioli, M., & D'Aniello, C. (2005). Classification and pathophysiology of skin grafts. *Clinics in dermatology*, 23(4), 332–7. doi:10.1016/j.clindermatol.2004.07.024

Andree, C., Reimer, C., Page, C. P., Slama, J., Stark, B. G., & Eriksson, E. (2001). Basement membrane formation during wound healing is dependent on epidermal transplants. *Plastic and reconstructive surgery*, 107(1), 97–104.

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. (2008). Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology letters*, 179(2), 93–100. doi:10.1016/j.toxlet.2008.04.009
- Artico, M., Ferrante, L., Pastore, F. S., Ramundo, E. O., Cantarelli, D., Scopelliti, D., & Iannetti, G. (2003). Bone autografting of the calvaria and craniofacial skeleton: historical background, surgical results in a series of 15 patients, and review of the literature. *Surgical neurology*, 60(1), 71–9.
- Atiyeh, B. S., & Costagliola, M. (2007). Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 33(4), 405–13. doi:10.1016/j.burns.2006.11.002
- Auger, F. A., Rouabhia, M., Goulet, F., Berthod, F., Moulin, V., & Germain, L. (1998). Tissue-engineered human skin substitutes developed from collagen-populated hydrated gels: clinical and fundamental applications. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 36(6), 801–812. doi:10.1007/BF02518887
- Barry, F. P., & Murphy, J. M. (2004). Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 36(4), 568–84. doi:10.1016/j.biocel.2003.11.001
- Bell, E. (2000). Tissue engineering in perspective. *Principles of Tissue Engineering*. Academic Press, NY.
- Bello, Y. M., Falabella, A. F., & Eaglstein, W. H. (2001). Tissue-engineered skin. Current status in wound healing. *American journal of clinical dermatology*, 2(5), 305–13.
- Blanpain, C., Lowry, W. E., Geoghegan, A., Polak, L., & Fuchs, E. (2004). Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell*, 118(5), 635–48. doi:10.1016/j.cell.2004.08.012
- Boucard, N., Viton, C., Agay, D., Mari, E., Roger, T., Chancerelle, Y., & Domard, A. (2007). The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns. *Biomaterials*, 28(24), 3478–88. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.04.021
- Boyce, S. T., Kagan, R. J., Greenhalgh, D. G., Warner, P., Yakuboff, K. P., Palmieri, T., & Warden, G. D. (2006). Cultured skin substitutes reduce requirements for harvesting of skin autograft for closure of excised, full-thickness burns. *The Journal of trauma*, 60(4), 821–9. doi:10.1097/01.ta.0000196802.91829.cc
- Bucala, R., Spiegel, L. A., Chesney, J., Hogan, M., & Cerami, A. (1994). Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 1(1), 71–81.
- Buchko, C., Chen, L., Shen, Y., & Martin, D. (1999). Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films. *Polymer*, 40, 7397–7407.
- Burd, A., & Chiu, T. (2005). Allogenic skin in the treatment of burns. *Clinics in dermatology*, 23(4), 376–87. doi:10.1016/j.clindermatol.2004.07.019
- Burks, C. A., Bundy, K., Fotuhi, P., & Alt, E. (2006). Characterization of 75:25 poly(l-lactide-co-epsilon-caprolactone) thin films for the endoluminal delivery of adipose-derived stem cells to abdominal aortic aneurysms. *Tissue engineering*, 12(9), 2591–600. doi:10.1089/ten.2006.12.2591

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Cai, K., Yao, K., Lin, S., Yang, Z., Li, X., Xie, H., Qing, T., et al. (2002). Poly(D,L-lactic acid) surfaces modified by silk fibroin: effects on the culture of osteoblast in vitro. *Biomaterials*, 23(4), 1153–60.
- Chen, G., Sato, T., Ohgushi, H., Ushida, T., Tateishi, T., & Tanaka, J. (2005). Culturing of skin fibroblasts in a thin PLGA-collagen hybrid mesh. *Biomaterials*, 26(15), 2559–66. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.07.034
- Chen, Q., Liang, S., & Thouas, G. A. (2012). Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*, null(null). doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003
- Chen, X., Qi, Y.-Y., Wang, L.-L., Yin, Z., Yin, G.-L., Zou, X.-H., & Ouyang, H.-W. (2008). Ligament regeneration using a knitted silk scaffold combined with collagen matrix. *Biomaterials*, 29(27), 3683–92. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.05.017
- Chester, D. L., Balderson, D. S., & Papini, R. P. G. (2004). A review of keratinocyte delivery to the wound bed. *The Journal of burn care & rehabilitation*, 25(3), 266–75.
- Chiarini, A., Petrini, P., Bozzini, S., Dal Pra, I., & Armato, U. (2003). Silk fibroin/poly(carbonate)-urethane as a substrate for cell growth: in vitro interactions with human cells. *Biomaterials*, 24(5), 789–99.
- Clark, R. A. F., Ghosh, K., & Tonnesen, M. G. (2007). Tissue engineering for cutaneous wounds. *The Journal of investigative dermatology*, 127(5), 1018–29. doi:10.1038/sj.jid.5700715
- Currie, L J, Sharpe, J. R., & Martin, R. (2001). The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements: a review. *Plastic and reconstructive surgery*, 108(6), 1713–26.
- Currie, Lachlan J, Martin, R., Sharpe, J. R., & James, S. E. (2003). A comparison of keratinocyte cell sprays with and without fibrin glue. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 29(7), 677–85.
- Dai, W., Kawazoe, N., Lin, X., Dong, J., & Chen, G. (2010). The influence of structural design of PLGA/collagen hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 31(8), 2141–52. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.11.070
- Dantzer, E., & Braye, F. M. (2001). Reconstructive surgery using an artificial dermis (Integra): results with 39 grafts. *British journal of plastic surgery*, 54(8), 659–64. doi:10.1054/bjps.2001.3684
- Domard, A., & Domard, M. (2001). Chitosan: Structure-properties relationship and biomedical applications. *DumitriuS, editor. Polymeric Biomaterials, 2nd ed. New ...*, 1, 187–212.
- Eaglstein, W. H., & Falanga, V. (1997). Tissue engineering and the development of Apligraf a human skin equivalent. *Advances in wound care : the journal for prevention and healing*, 11(4 Suppl), 1–8.
- Ehrenreich, M., & Ruszczak, Z. (2006). Update on dermal substitutes. *Acta dermatovenerologica Croatica : ADC*, 14(3), 172–87.
- El-Ghalbzouri, A., Lamme, E. N., Van Blitterswijk, C., Koopman, J., & Ponec, M. (2004). The use of PEGT/PBT as a dermal scaffold for skin tissue engineering. *Biomaterials*, 25(15), 2987–96. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.09.098
- Estrada, C., Paz, A., & López, L. (2006). Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas. *Revista EIA*, 5, 93–100.

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

Fisiología de la Piel. (n.d.).

Franco, M. A. H., Gonzáles, N. C. J., Díaz, M. E. M., Pardo, S. V., & Ospina, S. (2006). Epidemiological and clinical profile of burn victims Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, 1994-2004. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 32(8), 1044–51. doi:10.1016/j.burns.2006.03.023

Freed, L. E., Engelmayr, G. C., Borenstein, J. T., Moutos, F. T., & Guilak, F. (2009). Advanced material strategies for tissue engineering scaffolds. *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 21(32-33), 3410–8. doi:10.1002/adma.200900303

Furukawa, K., Pichora, J., Steinmann, S., Faber, K. J., Johnson, J. A., & King, G. J. W. (2007). Efficacy of interference screw and double-docking methods using palmaris longus and GraftJacket for medial collateral ligament reconstruction of the elbow. *Journal of shoulder and elbow surgery / American Shoulder and Elbow Surgeons ... [et al.]*, 16(4), 449–53. doi:10.1016/j.jse.2006.09.020

Georges, P. C., Miller, W. J., Meaney, D. F., Sawyer, E. S., & Janmey, P. A. (2006). Matrices with compliance comparable to that of brain tissue select neuronal over glial growth in mixed cortical cultures. *Biophysical journal*, 90(8), 3012–8. doi:10.1529/biophysj.105.073114

Gloria, A., De Santis, R., & Ambrosio, L. (n.d.). Polymer-based composite scaffolds for tissue engineering. *Journal of applied biomaterials & biomechanics : JABB*, 8(2), 57–67.

Grant, I., Warwick, K., Marshall, J., Green, C., & Martin, R. (2002). The co-application of sprayed cultured autologous keratinocytes and autologous fibrin sealant in a porcine wound model. *British journal of plastic surgery*, 55(3), 219–27. doi:10.1054/bjps.2002.3810

Griffith, L. G. (2002). Emerging design principles in biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 961, 83–95.

Griffith, L. G., & Swartz, M. A. (2006). Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 7(3), 211–24. doi:10.1038/nrm1858

Griffiths, M., Ojeh, N., Livingstone, R., Price, R., & Navsaria, H. (2004). Survival of Apligraf in acute human wounds. *Tissue engineering*, 10(7-8), 1180–95. doi:10.1089/ten.2004.10.1180

Gwak, S.-J., Kim, S.-S., Sung, K., Han, J., Choi, C. Y., & Kim, B.-S. (2005). Synergistic effect of keratinocyte transplantation and epidermal growth factor delivery on epidermal regeneration. *Cell transplantation*, 14(10), 809–17.

Haider, M., Megeed, Z., & Ghandehari, H. (2004). Genetically engineered polymers: status and prospects for controlled release. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 95(1), 1–26. doi:10.1016/j.jconrel.2003.11.011

Harley, B. A., Leung, J. H., Silva, E. C. C. M., & Gibson, L. J. (2007). Mechanical characterization of collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Acta biomaterialia*, 3(4), 463–74. doi:10.1016/j.actbio.2006.12.009

Harrison, C. A., Heaton, M. J., Layton, C. M., & Mac Neil, S. (2006). Use of an in vitro model of tissue-engineered human skin to study keratinocyte attachment and migration in the process of reepithelialization. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 14(2), 203–9. doi:10.1111/j.1743-6109.2006.00111.x

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Hart, D. W., Wolf, S. E., Chinkes, D. L., Gore, D. C., Mlcak, R. P., Beauford, R. B., Obeng, M. K., et al. (2000). Determinants of skeletal muscle catabolism after severe burn. *Annals of surgery*, 232(4), 455–65.
- Harty, M., Neff, A. W., King, M. W., & Mescher, A. L. (2003). Regeneration or scarring: an immunologic perspective. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 226(2), 268–79. doi:10.1002/dvdy.10239
- Hodde, J. (2002). Naturally occurring scaffolds for soft tissue repair and regeneration. *Tissue engineering*, 8(2), 295–308. doi:10.1089/107632702753725058
- Holmes, T. C. (2002). Novel peptide-based biomaterial scaffolds for tissue engineering. *Trends in biotechnology*, 20(1), 16–21.
- Horch, R. E., Kopp, J., Kneser, U., Beier, J., & Bach, A. D. (2005). Tissue engineering of cultured skin substitutes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(3), 592–608.
- Hori, K., Sotozono, C., Hamuro, J., Yamasaki, K., Kimura, Y., Ozeki, M., Tabata, Y., et al. (2007). Controlled-release of epidermal growth factor from cationized gelatin hydrogel enhances corneal epithelial wound healing. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 118(2), 169–76. doi:10.1016/j.jconrel.2006.12.011
- Hosseinkhani, H., & Hosseinkhani, M. (2009). Tissue Engineered Scaffolds for Stem Cells and Regenerative Medicine. *Trends in Stem Cell Biology and ...*, 367–383.
- Huang, Z.-M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63(15), 2223–2253. doi:10.1016/S0266-3538(03)00178-7
- Hubbell, J. A. (1995). Biomaterials in Tissue Engineering. *Bio/Technology*, 13(6), 565–576. doi:10.1038/nbt0695-565
- Jones, I., Currie, L., & Martin, R. (2002). A guide to biological skin substitutes. *British journal of plastic surgery*, 55(3), 185–93. doi:10.1054/bjps.2002.3800
- Kim, B. S., Baez, C. E., & Atala, A. (2000). Biomaterials for tissue engineering. *World journal of urology*, 18(1), 2–9.
- Kim, H., Ahn, S., & Park, J. (2003). Absorption Rates of Various-thickness Human Acellular Dermal Grafts(SureDerm(R)). *Journal of the Korean Society of Plastic and Reconstructive Surgeons*, 30(2), 224–230.
- Kon'kov, A. S., Pustovalova, O. L., & Agapov, I. I. (2010). Biocompatible materials from regenerated silk for tissue engineering and medicinal therapy. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(8), 739–744. doi:10.1134/S0003683810080028
- Kostoff, R. N., Stump, J. A., Johnson, D., Murday, J. S., Lau, C. G. Y., & Tolles, W. M. (2006). The structure and infrastructure of the global nanotechnology literature. *Journal of Nanoparticle Research*, 8(3-4), 301–321. doi:10.1007/s11051-005-9035-8
- Lafrance, H., Yahia, L., Germain, L., Guillot, M., & Auger, F. A. (1995). Study of the tensile properties of living skin equivalents. *Bio-medical materials and engineering*, 5(4), 195–208.

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Langer, R., & Vacanti, J. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260, 920–926.
- Lanza, R., Langer, R., & Vacanti, J. (2007a). *Principles of tissue engineering*.
- Lanza, R., Langer, R., & Vacanti, J. (2007b). *Principles of tissue engineering*.
- Lechuga, L. M. (n.d.). La revolución de la Nanomedicina. Sociedad Española de Directivos de la Salud (SEDISA).
- Lee, J. H., Kim, J. E., Kim, B. J., & Cho, K. H. (2007). In vitro phototoxicity test using artificial skin with melanocytes. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, 23(2-3), 73–80. doi:10.1111/j.1600-0781.2007.00279.x
- Leon, B. (2006). *Caracterización del pulverizado de hueso de bovino desmineralizado y evaluación de su capacidad regenerativa en piel de ratas*.
- Lesser, T., Aboseif, S., & Abbas, M. A. (2008). Combined endorectal advancement flap with Alloderm graft repair of radiation and cryoablation-induced rectourethral fistula. *The American surgeon*, 74(4), 341–5.
- Li, M., Mondrinos, M. J., Gandhi, M. R., Ko, F. K., Weiss, A. S., & Lelkes, P. I. (2005). Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials*, 26(30), 5999–6008. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.03.030
- Li, W.-J., Cooper, J. A., Mauck, R. L., & Tuan, R. S. (2006). Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta biomaterialia*, 2(4), 377–85. doi:10.1016/j.actbio.2006.02.005
- López Valle, C. A., Germain, L., Rouabhia, M., Xu, W., Guignard, R., Goulet, F., & Auger, F. A. (1996). Grafting on nude mice of living skin equivalents produced using human collagens. *Transplantation*, 62(3), 317–23.
- MacNeil, Sheila. (2007). Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature*, 445(7130), 874–80. doi:10.1038/nature05664
- MacNeil, Shelia. (2008). Biomaterials for tissue engineering of skin. *Materials Today*, 11(5), 26–35. doi:10.1016/S1369-7021(08)70087-7
- Marambio-Jones, Catalina Hoek, E. (2010). A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), 21. doi:http://dx.doi.org/10.1007/s11051-010-9900-y
- Martínez-Méndez, J. R., Ramón Bitrián, S., Leyva Rodríguez, F., & Casado Pérez, C. (2010). Terapia de vacío como adyuvante para el uso de sustitutos dérmicos monocapa. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 36(4), 321–326. doi:10.4321/S0376-78922010000400004
- McCullen, S. D., Ramaswamy, S., Clarke, L. I., & Gorga, R. E. (2009). Nanofibrous composites for tissue engineering applications. *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and nanobiotechnology*, 1(4), 369–90. doi:10.1002/wnan.39

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Metcalfe, A. D., & Ferguson, M. W. J. (2007). Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 4(14), 413–37. doi:10.1098/rsif.2006.0179
- Minuth, W. W., Sittinger, M., & Kloth, S. (1998). Tissue engineering: generation of differentiated artificial tissues for biomedical applications. *Cell and tissue research*, 291(1), 1–11. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9394038>
- Mizuno, K., Yamamura, K., Yano, K., Osada, T., Saeki, S., Takimoto, N., Sakurai, T., et al. (2003). Effect of chitosan film containing basic fibroblast growth factor on wound healing in genetically diabetic mice. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 64(1), 177–81. doi:10.1002/jbm.a.10396
- Morimoto, N., Suzuki, S., Saso, Y., Tomihata, K., Taira, T., Takahashi, Y., & Morikawa, N. (2005). Viability and Function of Autologous and Allogeneic Fibroblasts Seeded in Dermal Substitutes After Implantation. *Wound Repair and Regeneration*, 13(1), A14–A14. doi:10.1111/j.1067-1927.2005.130116ap.x
- Mostow, E. N., Haraway, G. D., Dalsing, M., Hodde, J. P., & King, D. (2005). Effectiveness of an extracellular matrix graft (OASIS Wound Matrix) in the treatment of chronic leg ulcers: a randomized clinical trial. *Journal of vascular surgery*, 41(5), 837–43. doi:10.1016/j.jvs.2005.01.042
- Moulin, V., Auger, F. A., O'Connor-McCourt, M., & Germain, L. (1997). Fetal and postnatal sera differentially modulate human dermal fibroblast phenotypic and functional features in vitro. *Journal of cellular physiology*, 171(1), 1–10. doi:10.1002/(SICI)1097-4652(199704)171:1<1::AID-JCP1>3.0.CO;2-S
- Moustafa, M., Bullock, A. J., Creagh, F. M., Heller, S., Jeffcoate, W., Game, F., Amery, C., et al. (2007). Randomized, controlled, single-blind study on use of autologous keratinocytes on a transfer dressing to treat nonhealing diabetic ulcers. *Regenerative medicine*, 2(6), 887–902. doi:10.2217/17460751.2.6.887
- Murphy, C. M., & O'Brien, F. J. (2010). Understanding the effect of mean pore size on cell activity in collagen-glycosaminoglycan scaffolds. *Cell adhesion & migration*, 4(3), 377–81.
- Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32(8-9), 762–798. doi:10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017
- Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. (n.d.).
- Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. (n.d.).
- Nathan, S., Das De, S., Thambyah, A., Fen, C., Goh, J., & Lee, E. H. (2003). Cell-based therapy in the repair of osteochondral defects: a novel use for adipose tissue. *Tissue engineering*, 9(4), 733–44. doi:10.1089/107632703768247412
- Oh, S. H., Kang, S. G., & Lee, J. H. (2006). Degradation behavior of hydrophilized PLGA scaffolds prepared by melt-molding particulate-leaching method: comparison with control hydrophobic one. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 17(2), 131–7. doi:10.1007/s10856-006-6816-2
- Orgill, D. P., Butler, C., Regan, J. F., Barlow, M. S., Yannas, I. V., & Compton, C. C. (1998). Vascularized collagen-glycosaminoglycan matrix provides a dermal substrate and improves take of cultured epithelial autografts. *Plastic and reconstructive surgery*, 102(2), 423–9.

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Parker, D. M., Armstrong, P. J., Frizzi, J. D., & North, J. H. (2006). Porcine dermal collagen (Permacol) for abdominal wall reconstruction. *Current surgery*, 63(4), 255–8. doi:10.1016/j.cursur.2006.05.003
- Phan, T. T., Lim, I. J., Tan, E. K., Bay, B. H., & Lee, S. T. (2005). Evaluation of cell culture on the polyurethane-based membrane (Tegaderm): implication for tissue engineering of skin. *Cell and tissue banking*, 6(2), 91–7. doi:10.1007/s10561-004-3904-8
- Puerta, D., Molina, C., & Cano, M. (2008). Soluciones terapéuticas para la reconstrucción de la dermis y la epidermis. Oportunidades en el medio antioqueño. *revistabme.eia.edu.co*, 2(3), 77–83.
- Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A. M., & Chiellini, E. (2010). Polymeric materials for bone and cartilage repair. *Progress in Polymer Science*, 35(4), 403–440. doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.01.006
- Rising, A., Nimmervoll, H., Grip, S., Fernandez-Arias, A., Storckenfeldt, E., Knight, D. P., Vollrath, F., et al. (2005). Spider Silk Proteins – Mechanical Property and Gene Sequence. *Zoological Science*, 22(3), 273–281. doi:10.2108/zsj.22.273
- Rumpel, E., Wolf, E., Kauschke, E., Bienengräber, V., Bayerlein, T., Gedrange, T., & Proff, P. (2006). The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes in vivo. *Folia morphologica*, 65(1), 43–8.
- Ryssel, H., Gazyakan, E., Germann, G., & Ohlbauer, M. (2008). The use of MatriDerm in early excision and simultaneous autologous skin grafting in burns—a pilot study. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 34(1), 93–7. doi:10.1016/j.burns.2007.01.018
- Sechriest, V. F., Miao, Y. J., Niyibizi, C., Westerhausen-Larson, A., Matthew, H. W., Evans, C. H., Fu, F. H., et al. (2000). GAG-augmented polysaccharide hydrogel: a novel biocompatible and biodegradable material to support chondrogenesis. *Journal of biomedical materials research*, 49(4), 534–41.
- Seitz, H., Rieder, W., Irsen, S., Leukers, B., & Tille, C. (2005). Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 74(2), 782–8. doi:10.1002/jbm.b.30291
- Sheridan, R. L., & Tompkins, R. G. (1999). Skin substitutes in burns. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 25(2), 97–103.
- Shevchenko, R. V, James, S. L., & James, S. E. (2010). A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 7(43), 229–58. doi:10.1098/rsif.2009.0403
- Silverstein, G. (2006). Dermal regeneration template in the surgical management of diabetic foot ulcers: a series of five cases. *The Journal of foot and ankle surgery: official publication of the American College of Foot and Ankle Surgeons*, 45(1), 28–33. doi:10.1053/j.jfas.2005.10.005
- Smith, L. A., Liu, X., & Ma, P. X. (2008). Tissue Engineering with Nano-Fibrous Scaffolds. *Soft matter*, 4(11), 2144–2149. doi:10.1039/b807088c
- Soria, J., & González, J. B. (2009). Uso de biomateriales en medicina regenerativa, aspectos básicos y aplicaciones en el sistema nervioso. *Trauma*, 20(1), 15–22.
- Still, J., Glat, P., Silverstein, P., Griswold, J., & Mazingo, D. (2003). The use of a collagen sponge/living cell composite material to treat donor sites in burn patients. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 29(8), 837–41.

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

- Stoilova, Y. D., Haidushkal, I. A., Murdjeval, M. A., Traikov, I. Z., Popova, T. A., & Kevorkyan, A. K. (2007). Immunological and microbiological investigations of patients with burn injuries. *Folia medica*, 49(1-2), 49–58.
- Supp, D. M., & Boyce, S. T. (2005). Engineered skin substitutes: practices and potentials. *Clinics in dermatology*, 23(4), 403–12. doi:10.1016/j.clindermatol.2004.07.023
- Suárez, A., Salgado, R. M., Zamira, A. M., & Krötzsch, E. (2004). Inducción de tejido de granulación por pasta de Lassar vs colágena- Polivinilpirrolidona en úlceras por insuficiencia venosa. *Revista de la Asociación Mexicana de Cirugía Plástica, Estética y Reconstructiva. Cirugía Plástica*, 14(1), 5–13.
- Tada, Y., Suzuki, T., Takezawa, T., Nomoto, Y., Kobayashi, K., Nakamura, T., & Omori, K. (2008). Regeneration of tracheal epithelium utilizing a novel bipotential collagen scaffold. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 117(5), 359–65.
- Tremblay, P.-L., Hudon, V., Berthod, F., Germain, L., & Auger, F. A. (2005). Inosculation of tissue-engineered capillaries with the host's vasculature in a reconstructed skin transplanted on mice. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, 5(5), 1002–10. doi:10.1111/j.1600-6143.2005.00790.x
- Vacher, D. (2003). [Autologous epidermal sheets production for skin cellular therapy]. *Annales pharmaceutiques françaises*, 61(3), 203–6.
- Vanscheidt, W., Ukat, A., Horak, V., Brüning, H., Hunyadi, J., Pavlicek, R., Emter, M., et al. (2007). Treatment of recalcitrant venous leg ulcers with autologous keratinocytes in fibrin sealant: a multinational randomized controlled clinical trial. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 15(3), 308–15. doi:10.1111/j.1524-475X.2007.00231.x
- Wang, H.-J., Gong, S.-J., Lin, Z.-X., Fu, J.-X., Xue, S.-T., Huang, J.-C., & Wang, J.-Y. (2007). In vivo biocompatibility and mechanical properties of porous zein scaffolds. *Biomaterials*, 28(27), 3952–64. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.05.017
- Wang, Y., Wong, L. B., & Mao, H. (2010). Creation of a long-lifespan ciliated epithelial tissue structure using a 3D collagen scaffold. *Biomaterials*, 31(5), 848–53. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.09.098
- Waters, J. M., Richardson, G. D., & Jahoda, C. A. B. (2007). Hair follicle stem cells. *Seminars in cell & developmental biology*, 18(2), 245–54. doi:10.1016/j.semcd.2007.02.003
- Wiesner, M. R., Lowry, G. V., Alvarez, P., Dionysiou, D., & Biswas, P. (2006). Assessing the risks of manufactured nanomaterials. *Environmental science & technology*, 40(14), 4336–45.
- Wong Po Foo, C., & Kaplan, D. L. (2002). Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. *Advanced drug delivery reviews*, 54(8), 1131–43.
- Wood, F. M., Kolybaba, M. L., & Allen, P. (2006). The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn injuries: a critical review of the literature. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 32(4), 395–401. doi:10.1016/j.burns.2006.01.008
- Wood, F., Stoner, M., Fowler, B., & Fear, M. (2007). The use of a non-cultured autologous cell suspension and Integra dermal regeneration template to repair full-thickness skin wounds in a

| | | | |
|--|--|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

porcine model: a one-step process. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 33(6), 693–700. doi:10.1016/j.burns.2006.10.388

Xu, W., Zhou, F., Ouyang, C., Ye, W., Yao, M., & Xu, B. (2010). Mechanical properties of small-diameter polyurethane vascular grafts reinforced by weft-knitted tubular fabric. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 92(1), 1–8. doi:10.1002/jbm.a.32333

Yang, L., Shirakata, Y., Tokumaru, S., Xiuju, D., Tohyama, M., Hanakawa, Y., Hirakawa, S., et al. (2009). Living skin equivalents constructed using human amnions as a matrix. *Journal of dermatological science*, 56(3), 188–95. doi:10.1016/j.jdermsci.2009.09.009

Young-Kwon, S., & Jung-Keug, P. (2010). Tissue engineered scaffold utilizing the reinforced technique. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(4), 527–533. doi:10.1007/s12257-009-0159-z

Zhang, L., & Webster, T. J. (2009). Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*, 4(1), 66–80. doi:10.1016/j.nantod.2008.10.014

Zheng, Y., Du, X., Wang, W., Boucher, M., Parimoo, S., & Stenn, K. (2005). Organogenesis from dissociated cells: generation of mature cycling hair follicles from skin-derived cells. *The Journal of investigative dermatology*, 124(5), 867–76. doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23716.x

Zhu, N., Warner, R. M., Simpson, C., Glover, M., Herson, C. A., Kelly, J., Fraser, S., et al. (2005). Treatment of burns and chronic wounds using a new cell transfer dressing for delivery of autologous keratinocytes. *European Journal of Plastic Surgery*, 28(5), 319–330. doi:10.1007/s00238-005-0777-4

Zlochiver, S., Radai, M. M., Abboud, S., Rosenfeld, M., Dong, X.-Z., Liu, R.-G., You, F.-S., et al. (2004). Induced current electrical impedance tomography system: experimental results and numerical simulations. *Physiological measurement*, 25(1), 239–55.

| | | | |
|--|-----------------------------------|---------|--|
|  Institución Universitaria | INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADO | Código | |
| | | Versión | |
| | | Fecha | |

ANEXO

Tabla de biomateriales con sus ventajas, desventajas y aplicaciones para tratamiento de piel (Archivo en Excel).