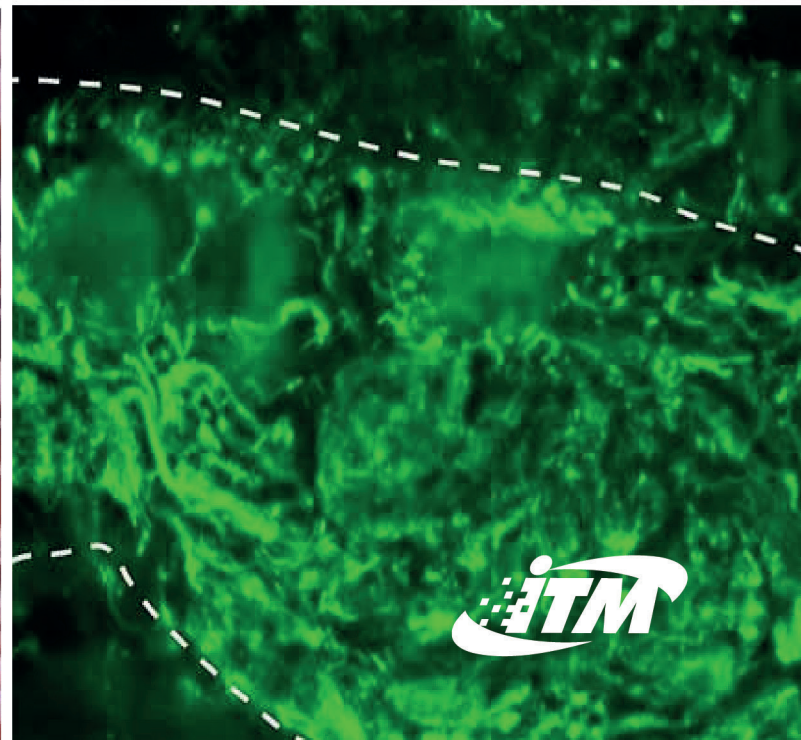
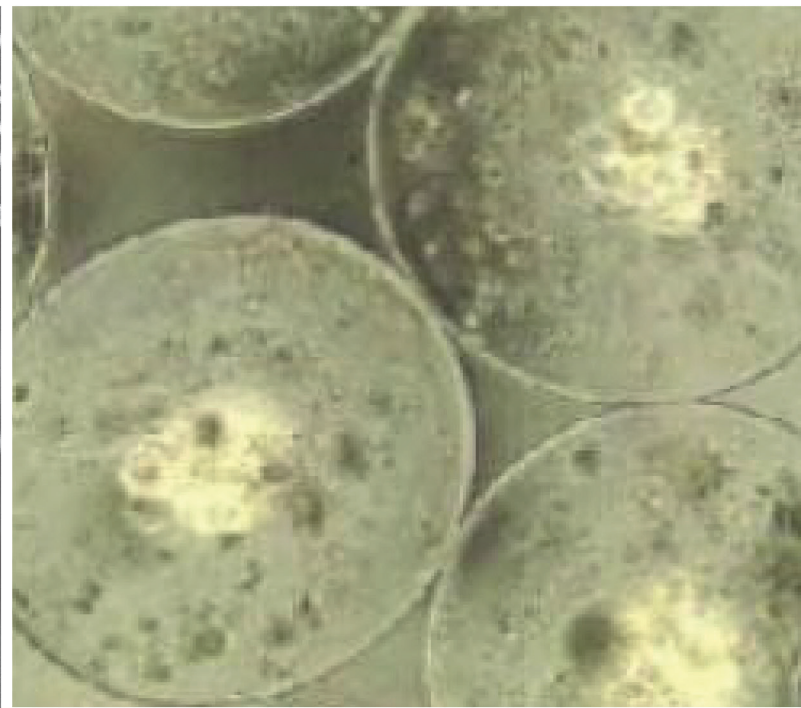
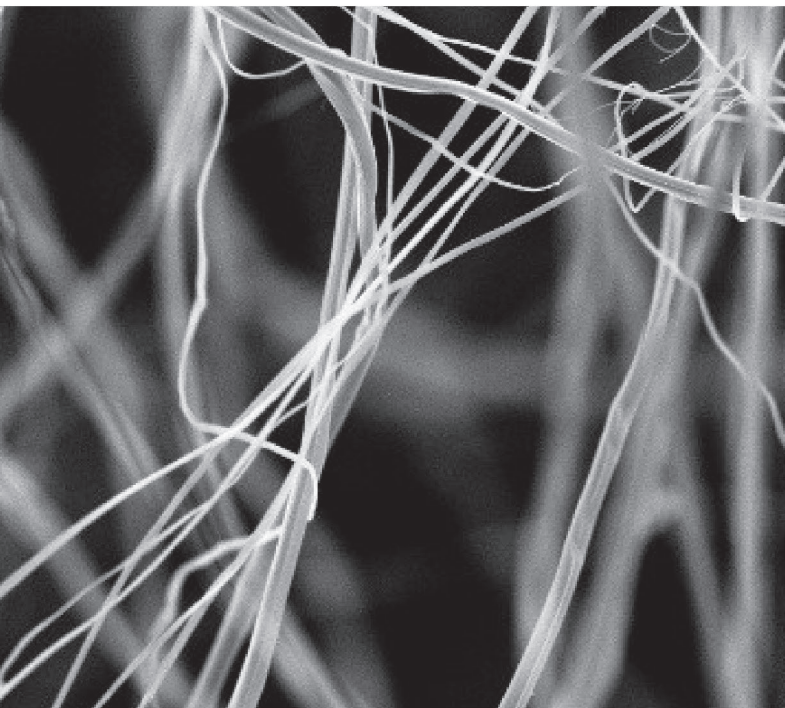


INGENIERÍA DE TEJIDOS Y APLICACIONES

Sebastián Roldán • Carlos Andrés Vargas • Mónica Liliana Mejía
Jenniffer Zapata • María Elena Moncada



INGENIERÍA DE TEJIDOS Y APLICACIONES

INGENIERÍA DE TEJIDOS Y APLICACIONES

Sebastián Roldán Vasco
Carlos Andrés Vargas Isaza
Mónica Liliana Mejía
Jenniffer Zapata Giraldo
María Elena Moncada Acevedo



Ingeniería de tejidos y aplicaciones / Sebastián Roldán Vasco... [et al.]. -- 1a ed. -- Medellín:
Fondo Editorial

ITM, 2016

376 p. : il. -- (Investigación científica)

Incluye referencias bibliográficas
ISBN 978-958-8743-84-4

1. Ingeniería de tejidos 2. Tejidos 3. Biomateriales 4. Ingeniería biomédica I. Roldán Vasco, Sebastián
II. Vargas Isaza, Carlos Andrés III. Mejía, Mónica Liliana IV. Zapata Giraldo Jenniffer V. Moncada Acevedo,
María Elena VI. Serie

610.28 SCDD Ed.21

Catalogación en la publicación - Biblioteca ITM

Ingeniería de Tejidos y Aplicaciones
© Instituto Tecnológico Metropolitano -ITM-

Edición: junio 2016

Hechos todos los depósitos legales

Publicación electrónica para consulta gratuita

AUTORES

Sebastián Roldán Vasco
Carlos Andrés Vargas Isaza
Mónica Liliana Mejía
Jenniffer Zapata Giraldo
María Elena Moncada Acevedo

RECTORA

María Victoria Mejía Orozco

DIRECTORA EDITORIAL

Silvia Inés Jiménez Gómez

COMITÉ EDITORIAL

Eduard Emiro Rodríguez Ramírez, MSc.
Jaime Andrés Cano Salazar, PhD.
Silvia Inés Jiménez Gómez, MSc.
Yudy Elena Giraldo Pérez, MSc.
Viviana Díaz, Esp.

CORRECTORA DE ESTILO

Lila M. Cortés Fonnegra

ASISTENTE EDITORIAL

Viviana Díaz

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

Claudia Castrillón

Editado en Medellín, Colombia
Fondo Editorial ITM
Calle 73 No. 76 A 354 (vía El Volador)
Tel: (574) 440 5197 - 440 5246
<http://fondoeditorial.itm.edu.co/>
www.itm.edu.co

Las opiniones, originales y citas del texto son de la responsabilidad de los autores. El ITM salva cualquier obligación derivada del libro que se publica. Por lo tanto, ella recaerá única y exclusivamente sobre los autores.

Contenido

1	INGENIERÍA DE TEJIDOS	8
1.1	Introducción.....	9
1.2	Historia	10
1.3	Principios Básicos	14
1.4	Tipos de células usadas en ingeniería de tejidos	16
1.4.1	Clasificación por fuente	16
1.4.2	Clasificación por nivel de diferenciación.....	17
1.5	Biomateriales en ingeniería de tejidos	20
1.5.1	Propiedades.....	21
1.5.2	Propiedades biológicas.....	22
1.6	Fabricación de andamios	23
1.6.1	Tipos de andamios para aplicaciones en ingeniería de tejidos	23
1.7	Bioreactores.....	27
1.7.1	Sistemas de biorreactores.....	29
1.7.2	Conceptos teóricos de biorreactores futuros	34
1.8	Consideraciones éticas	35
1.9	Desafíos.....	39
2	BIOMATERIALES EN LA INGENIERÍA DE TEJIDOS	74
2.1	Definición de biomateriales	75
2.2	Clasificación y usos	76
2.3	Requerimientos y consideraciones generales del uso de los biomateriales.....	77
2.3.1	Toxicología.....	78
2.3.2	Biocompatibilidad.....	78
2.3.3	Inflamación y curación.....	78
2.3.4	Estructura de tejido funcional y pato biología de biomateriales	79
2.3.5	Dependencia de sitios anatómicos específicos de implantación	79
2.3.6	Desempeño físico y mecánico del material	79
2.3.7	Participación de la industria.....	79
2.3.8	Relación riesgo/beneficio y realidad corporativa	80
2.3.9	Ética.....	80
2.3.10	Regulación	81
2.4	Tipos de biomateriales y propiedades	81
2.4.1	Metales.....	81
2.4.2	Cerámicos	82
2.4.3	Polímeros	84
2.4.4	Materiales compuestos	87

2.5	Requerimientos y propiedades de biomateriales para la ingeniería de tejidos	88
2.5.1	Biodegradación	89
2.5.2	Propiedades mecánicas.....	89
2.5.3	Porosidad	92
2.5.4	Nanofibras	93
2.5.5	Bioactividad.....	94
2.5.6	Funcionalidad superficial.....	95
2.6	Tipos de biomateriales empleados en la ingeniería de tejidos	95
2.6.1	Polímeros naturales.....	96
2.6.2	Polímeros sintéticos	108
2.6.3	Cerámicos.....	117
2.6.4	Compuestos.....	119
3	APLICACIONES DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS EN PIEL	155
3.1	Introducción	156
3.1.1	Estructura de la piel	156
3.1.2	La regulación de la piel y la curación de heridas.....	158
3.2	Generalidades de la ingeniería de tejidos en la piel.....	159
3.3	Injertos y sustitutos.....	162
3.3.1	Sustitutos dérmicos	162
3.3.2	Sustitutos epidérmicos.....	172
3.3.3	Sustitutos compuestos.....	177
3.4	Nanomateriales	183
3.5	Retos y nuevas perspectivas en ingeniería de tejido de piel.....	184
4	APLICACIONES DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS EN SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	221
4.1	Introducción	222
4.1.1	Histología de los vasos sanguíneos	224
4.2	Ingeniería de tejido cardiovascular	225
4.3	Andamios en ingeniería de tejido cardiovascular.....	227
4.3.1	Requisitos para fabricación de andamios en el sistema cardiovascular	229
4.3.2	Biomateriales usados en la construcción de andamios para tejido cardiovascular	231
4.4	Dispositivos utilizados en ingeniería de tejido cardiovascular	233
4.4.1	Constructos de miocardio.....	234
4.4.2	Injertos vasculares.....	235
4.4.3	Válvulas cardíacas	237
4.5	Desafíos y futuro de la ingeniería de tejido cardiovascular.....	239
4.5.1	Ingeniería de tejido en miocardio	240
4.5.2	Corazones bioartificiales	240

5	APLICACIONES DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS EN SISTEMA ÓSEO	276
5.1	Introducción	277
5.2	Ingeniería de tejido óseo	279
5.3	Tipos de injertos.....	281
5.4	Andamios en ingeniería de tejido óseo.....	282
5.4.1	Requisitos para fabricación de andamios en el sistema óseo	283
5.4.2	Biomateriales en la construcción de andamios en tejido óseo	284
5.5	Propiedades necesarias para la regeneración ósea	291
5.5.1	Microarquitectura y porosidad.....	291
5.5.2	Propiedades mecánicas.....	294
5.5.3	Topografía	297
5.5.4	Adhesión celular	299
5.5.5	Propiedades eléctricas.....	302
5.6	Desafíos y nuevas perspectivas en la ingeniería de tejido óseo	303
5.6.1	Nuevos materiales	304
5.6.2	Ingeniería de tejidos en cartílago	303
5.6.3	Recubrimientos en dispositivos de ortopedia	303
6	APLICACIONES DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS EN SISTEMA NERVIOSO	342
6.1	Introducción	343
6.2	Estructura cerebral y estrategias de reparación	347
6.3	Andamios en ingeniería de tejido nervioso	347
6.3.1	Diseño de andamios para promover la reparación neural	349
6.3.2	Requisitos de los biomateriales de andamios para uso en ingeniería de tejido nervioso	351
6.3.3	Biomateriales naturales	351
6.3.4	Biomateriales sintéticos	357
6.4	Conductos nerviosos	361
6.5	Administración de fármacos.....	362
6.5.1	Sistemas de administración	362
6.5.2	Selección de fármacos	364
6.6	Propiedades necesarias para la regeneración nerviosa.....	365
6.6.1	Adhesión celular y moléculas de adhesión	366
6.6.2	Porosidad	366
6.6.3	Propiedades eléctricas.....	367
6.6.4	Efecto de la orientación de la fibra y su tamaño.....	367
6.7	Desafíos de la ingeniería de tejido nervioso.....	368
6.7.1	Desafíos de la ingeniería de tejido cerebral.....	368
6.7.2	Desafíos de los andamios para la reparación de la médula espinal	369
6.7.3	Desafíos de los andamios para la reparación de nervio periférico.....	369



1. INGENIERÍA DE TEJIDOS

1.1 Introducción

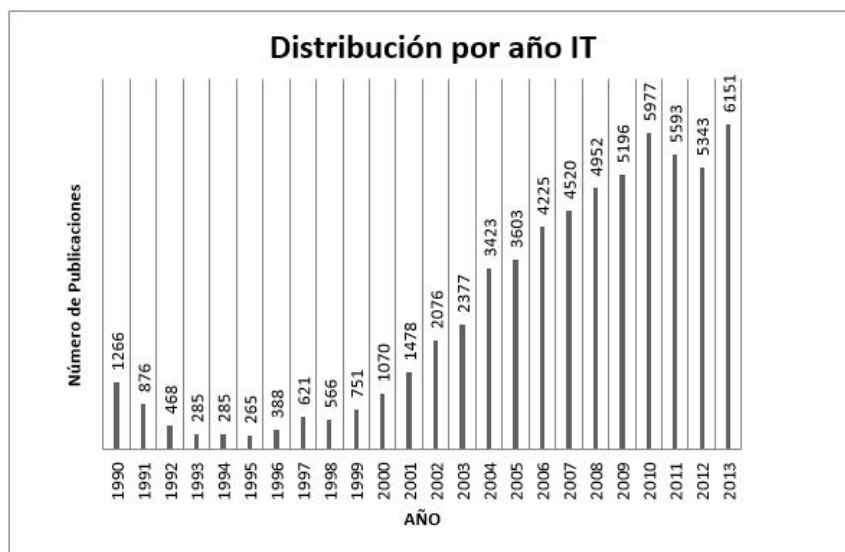
La concepción fundamental de la ingeniería de tejidos parte de la capacidad inherente del cuerpo humano para curarse a sí mismo. Esta capacidad de auto-reparación y regeneración frente a enfermedades o heridas, depende del tejido u órgano y están limitadas por el grado de daño, pérdida de la función y del número de tejidos involucrados. El proceso de reparación, sin embargo, ha mejorado en gran medida gracias a los avances en la tecnología médica (Chen, Liang, & Thouas, 2012). Por ejemplo, en el campo de la cirugía reconstructiva, se han generado soluciones basadas en trasplante de tejido xenogénico (origen animal), prótesis y manipulación localizada de sitios de lesión a nivel celular y molecular, en conjunto con los enfoques convencionales de reconstrucción a partir de tejido alogénico (origen en otro paciente humano) y autogénico (origen en el mismo paciente) (Artico et al., 2003).

El trasplante de órganos se convirtió en una terapia viable en 1954, cuando Joseph Murray y John Merrill realizaron satisfactoriamente el primer trasplante de riñón entre gemelos monocigóticos (Merrill, Murray, & Harrison, 1956). El campo creció rápidamente, y el número y tipo de órganos a ser trasplantados se incrementaron dramáticamente. Actualmente, corazón, pulmón, hígado, riñón, páncreas, células de los islotes, córnea, hueso, médula ósea, piel, ovario, testículo, nervio, oído medio e intestino están clínicamente disponibles para trasplante (Patrick, Mikos, McIntire & Langer, 1998). Dado que el número de procedimientos de trasplante realizados se encuentra limitado por el pequeño número de donantes de órganos disponibles, los cirujanos han empezado a desarrollar procedimientos alternativos.

La ingeniería de tejidos es un campo de investigación multidisciplinario que involucra biología celular y molecular, ciencias de los materiales, biorreactores, bioingeniería, medicina, entre otras, que apuntan a mejorar o reemplazar funciones biológicas (Ueda, 2011). La ingeniería de tejidos se conecta con la práctica médica mediante terapias basada en células. Los enfoques predominantes incluyen métodos de recolección y expansión de tejidos vivos *in vitro*, así como el diseño de los biomateriales y andamios que proporcionan el soporte estructural adecuado para el tejido de interés. Cuando un tratamiento médico se enfoca predominantemente en la regeneración de los tejidos vivos *in vitro* o *ex vivo* utilizando métodos de biotecnología, la cirugía reconstructiva pasa a denominarse ingeniería de tejidos (Bell, 2000).

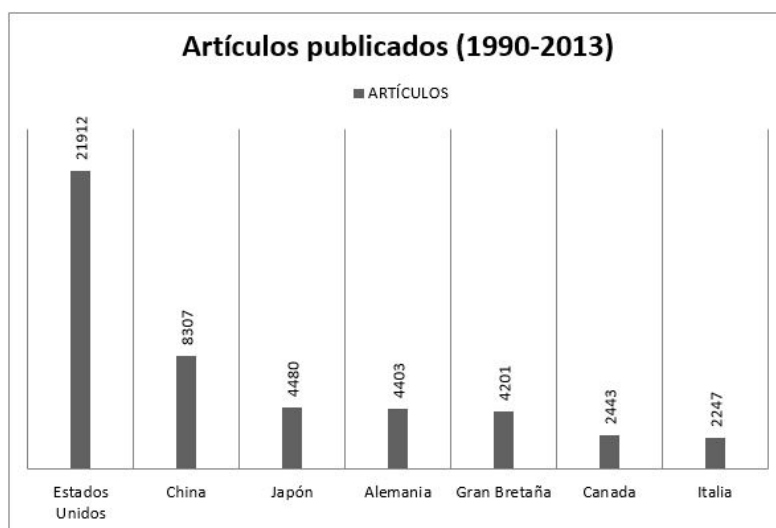
Uno de los objetivos más importantes de este campo es el diseño de los biomateriales que soporten las células, y de las moléculas de señalización que permitan la regeneración del tejido, que lleve a una alternativa de trasplante de órganos y a la posterior reconstrucción de tejidos. Las investigaciones y desarrollos en esta área han aumentado en los últimos 40 años (ver Figura 1 y Figura 2), dada la urgente necesidad de alternativas a tratamientos médicos relacionados con daños o pérdidas de tejidos, cáncer, enfermedades degenerativas, entre otras (Chen et al., 2012; Langer & Vacanti, 1993).

Figura 1. Distribución por año de número de artículos publicados relacionados con la ingeniería de tejidos



Fuente: Scopus.

Figura 2. Distribución por país de número de artículos publicados relacionados con la ingeniería de tejidos



Fuente: Scopus.

1.2 Historia

Desde su concepción en la década de 1980, el campo de la ingeniería de tejidos ha presentado un importante crecimiento en términos de conocimiento, interés y aplicaciones. El término “ingeniería de tejidos” fue introducido en el área médica en

1987, y un año después fue acordada la siguiente definición: “La ingeniería de tejidos es la aplicación de principios y métodos de la ingeniería y las ciencias de la vida a través del entendimiento fundamental de la relación entre estructura y función en tejido mamífero normal y patológico y el desarrollo de substitutos biológicos para restaurar, mantener, o mejorar funciones” (Ulrich Meyer, 2008; Schultheiss, Bloom, Wefer & Jonas, 2000).

El surgimiento de la ingeniería de tejidos está estrechamente relacionado con el desarrollo de la medicina (prótesis, cirugía reconstructiva, medicina de trasplantes, microcirugía) y la biología (biología celular, bioquímica, biología molecular, genética). Las primeras prótesis humanas que suplieron las necesidades comunes fueron las piernas de madera o mecánicas y las prótesis dentales. El francés Ambroise Paré (1510-1590) describió en su trabajo *Dix livres de la chirurgie* (Hunter, 1771; Paré, Baker, Cecil & Johnson, 1634), medidas para reconstruir dientes, narices y otras partes del cuerpo. Uno de los métodos más comunes en el siglo XVIII para reemplazar dientes fue el trasplante homólogo (mismo tejido de pacientes diferentes). John Hunter (1728-1793) fue pionero en su trabajo no solo a nivel clínico (afirmó que los dientes trasplantados podrían durar varios años) sino también experimental (realizando trasplantes en animales), estableciendo así las bases para un enfoque científico en la medicina de trasplantes (Ulrich Meyer, 2008).

Uno de los hitos en la visión moderna de la ingeniería de tejidos fue el uso de injertos de piel. Los injertos de piel están muy relacionados con el trabajo del famoso cirujano Johann Friedrich Dieffenbach (1792–1847), quien realizó experimentos con trasplantes de tejidos y, en 1822, presentó sus resultados con trasplantes de plumas, cabello y piel en aves y mamíferos (Dieffenbach, 1822). Dieffenbach es uno de los fundadores modernos de la cirugía plástica y reconstructiva y también puede ser considerado como un practicante temprano en la medicina de trasplantes.

Los principales avances en el uso clínico de injertos de piel fueron otorgados a Heinrich Büniger, primero en trasplantar con éxito piel autóloga (Büniger, 1823) y a Jaques Reverdin (1842–1929), quien usó pequeños islotes de injerto. Posteriormente, Esser (1877-1946) realizó injertos más grandes en reconstrucciones de heridas faciales utilizando material de impresión dental estéril, inventado y vendido por el Dr. Charles T. Stent (Schultheiss et al., 2000; Bloom, Clayman, & McDougal, 1999). Los injertos de piel se convirtieron en la primera forma ampliamente utilizada de la ingeniería de tejidos, inicialmente como un autotrasplante y más recientemente como aloinjertos y xenoinjertos, estos últimos utilizados en gran parte como apósitos estériles para quemaduras (Pruitt, 1997).

El esclarecimiento de los mecanismos biológicos que representaban el destino de los trasplantes fue proporcionado por el trabajo de R. Virchow (1821–1902), quien en su *Cellular pathologie* (1858), confirmó que la regeneración de tejidos depende de la proliferación celular (Virchow, 1858). Su trabajo condujo no solo a la investigación de la cicatrización de los tejidos a través de los efectos celulares, sino también al cultivo de células fuera del cuerpo (in vitro,

sugerido por primera vez por L. Loeb en 1897 (Loeb, 1897)). C.A. Ljunggren y J. Jolly por su parte, fueron los primeros investigadores que intentaron cultivar células fuera del cuerpo (Ljunggren, 1898; Jolly, 1903). El gran avance en el cultivo de células in vitro fue alcanzado por R. G. Harrison (1870-1959), quien demostró el crecimiento activo de las células cultivadas (R. G. Harrison, 1907, 1910). Desde ese momento, la biología celular y especialmente el cultivo de células in vitro, se convirtió en la base de lo que puede considerarse la ingeniería de tejidos clásica. El cultivo celular in vitro llevó al trasplante de células y subsecuentemente a la ingeniería de tejidos moderna junto a la medicina regenerativa, todo esto conectado directamente con la microcirugía (Fell, 1972).


Alexis Carrel (1873-1944) es considerado el fundador de los trasplantes de órganos modernos, gracias a su trabajo relacionado con los métodos de anastomosis vascular (Carrel, 1902)(Witkowski, 1979)(Carrel & Burrows, 1911). La cirugía microvascular fue realizada principalmente en trasplantes de órganos y cirugía plástica, y gracias a su técnica fueron trasplantados posteriormente órganos completos. E Ullman y J.P. Merrill están directamente relacionados con los avances en la medicina de trasplantes y fueron los primeros en trasplantar un riñón en animales (Ullman, 1902) y en gemelos idénticos, respectivamente (Merrill et al., 1956). El éxito de la medicina de trasplantes, ya sea en células, tejidos u órganos depende en gran medida del estado inmunológico del injerto y el huésped, lo que continua siendo un aspecto crítico en todas las aplicaciones de ingeniería de tejidos y medicina regenerativa (Ulrich Meyer, Handschel, Wiesmann & Meyer, 2008).

El término “ingeniería de tejidos”, como se utiliza hoy en día, se introdujo en la medicina hacia 1987. Los primeros años de la ingeniería de tejidos moderna se basaron en el estudio celular y los métodos para el cultivo de tejidos. W.T. Green llevó a cabo una serie de experimentos en la década de 1970, para generar cartílago utilizando una técnica de cultivo de condrocitos en combinación con un “andamio de hueso”. A pesar de su incapacidad para generar nuevo cartílago, estableció el principio teórico-práctico para conectar las células con andamios (Ulrich Meyer, 2008). Las innovaciones con este método fueron introducidas por Burke y Yannas en colaboración con el Hospital General de Massachusetts y el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT por sus siglas en inglés), quienes generaron piel mediante el cultivo de fibroblastos dérmicos y queratinocitos en andamios proteicos, que fueron luego usados para la regeneración de heridas por quemadura.

El trabajo y conversaciones entre el Dr. Joseph Vacanti del hospital de niños de Boston y el Dr. Robert Langer del M.I.T, dieron comienzo a esta nueva disciplina biomédica entre instituciones, gracias a su artículo publicado en la revista *Science* (Robert Langer & Vacanti, 1993); tiempo después, un gran número de centros en todo el mundo concentraron sus esfuerzos de investigación en este campo. La ingeniería de tejidos fue llevada al plano público a través de un programa realizado por la British Broadcasting Corporation - BBC en donde fue abordado el tema de ingeniería de tejidos de cartílago, que incluía imágenes del ahora famoso “ratón con el oído humano” (Vacanti, 2006). Esto ayudó a trasladar la idea y la visión de generar nuevos tejidos u órganos del mundo imaginario al mundo

real. Desde entonces, la ingeniería de tejidos ha sido considerada una de las tecnologías biomédicas más prometedoras (Wadman, 2007). En la Figura 3 se detalla una línea de tiempo con los sucesos más importantes para la creación de la ingeniería de tejidos, obtenidos principalmente de registros norteamericanos.

Figura 3. Línea de tiempo del desarrollo de la ingeniería de tejidos en Estados Unidos de América



2014	Ensayos en lesiones de médula espinal: Aprobación de la FDA a Geron Corp (OPC derivadas de hESC).
2009	El presidente de EEUU, Barack Obama, levanta la restricción para trabajar en células madre embrionarias impuesta por su predecesor. Hígados bioartificiales xenogénicos se vuelven rutinarios.
2008	Implante de segmento de tráquea a partir de tejido descelularizado.
2007	Creación de células madre pluripotentes inducidas de células adultas de piel. Organogénesis alcanza el punto de equilibrio. Ventas anuales de Apligraf por \$60M. Más de un millón de pacientes tratados mediante Ingeniería de Tejidos; actividad económica del sector aumenta cinco veces desde 2002: ventas por \$1300M.
2006	Se publica artículo en Lancet de una vejiga con tecnología de Ingeniería de Tejidos. Se lanza Proteus Venture Capital Fund, el primer fondo dedicado a la Ingeniería de Tejidos.
2005-2004	Organogénesis emerge de la banca rota. Carticel se vuelve rentable
2002	Se aprueba matriz de regeneración dérmica de Integra Lifesciences para tratamiento de quemaduras graves. Aprobación de la FDA al injerto óseo Infuse de Medtronic. Organogénesis se declara en bancarota. Pérdida de 800 empleos de tiempo completo en la industria (EEUU). El capital de las compañías cae de \$2500M a \$300M. Hígado bioartificial de Circe supera la fase III. FDA no garantiza resultados. Incremento de 42% en firmas que trabajan en células madre. Acuñan el término Medicina Regenerativa.
2001	George Bush prohíbe el financiamiento para la investigación de células madre embrionarias.
2000	La revista Time denomina la Ingeniería de Tejidos como el Hottest Job del futuro. Se gastan al año \$580M en I+D (EEUU)
1998	FDA aprueba Apligraf, el primer producto alogénico de la Ingeniería de Tejidos. Se aíslan células madre embrionarias humanas.
1997	La FDA aprueba Carticel, un implante de cartilago autólogo. TransCyte se convierte en el primer producto de Ingeniería de Tejidos aprobado por la FDA.
1996	Se funda la Sociedad de Ingeniería de Tejidos, hoy en día llamada Sociedad Internacional de Ingeniería de Tejidos y Medicina Regenerativa, TERMIS (por sus siglas en inglés).
1990	Se invierte \$3.5 billones en Ingeniería de Tejidos alrededor del mundo, 90% a partir de fondos privados.
Finales de 1980	El término Ingeniería de Tejidos aparece en la literatura, se comienza el trabajo en el área en Massachusetts.

Fuente: Place, Evans & Stevens, 2009.

1.3 Principios básicos

El término ‘ingeniería de tejidos’ fue acuñado por Y. C. Fung en 1987, pionero de la biomecánica y biomédica, y se desarrolló como una alternativa al trasplante tradicional de órganos, debido a la escasez de estos o rechazo inmunológico por parte de los pacientes. La ingeniería de tejidos 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” (Robert Langer & Vacanti, 1993).

Un ingeniero de tejidos debe comprender la relación entre la estructura y la función de las células, tejidos y órganos, así como combinar conocimientos de biología, materiales, ingeniería y cirugía (Caplan, 2000). Como biólogo debe estar familiarizado con las claves moleculares, químicas, biológicas, y con eventos celulares relacionados con la formación de tejidos y órganos; como un científico de materiales, debe estudiar las propiedades de los tejidos y diseñar tejidos sustitutos que concuerden con las propiedades del tejido nativo; como ingeniero, debe diseñar biorreactores que soporten el crecimiento de tejido *in vitro* y desarrollar modelos predictivos que describan las propiedades dinámicas del mismo (e.g. propiedades mecánicas); y familiarizarse con procesos quirúrgicos tales como trabajos con moléculas bioactivas, conocimiento de diferentes tipos de células, diseño de tejidos que puedan acelerar el proceso de curación al momento de ser implantado, así como idear estrategias de tiempos y optimización (L. L. Y. Chiu, Chu, & Radisic, 2011).

El punto básico de la ingeniería de tejidos es la utilización de células vivas cultivadas en el laboratorio, que son posteriormente cargadas en número suficiente sobre andamios para la implantación, permitiendo a los cirujanos manipular el medio ambiente local del tejido y proporcionando una alternativa fisiológica con mejor y más rápida recuperación (H. Chen & Hu, 2006). Las células son cultivadas en una matriz natural (e.g. colágeno) para simular el entorno de las células en los tejidos, o cualquier otro tipo de soporte o estructura tridimensional que imite la estructura de un órgano. En general, la esencia de la ingeniería de tejidos es proporcionar señales físicas y químicas en andamios degradables bioactivos para guiar el anclaje y diferenciación celular en tejidos funcionales tridimensionales (Griffith & Naughton, 2002).

Desde que Langer y Vacanti publicaron en 1993 las primeras bases de la ingeniería de tejidos (Robert Langer & Vacanti, 1993), esta se ha convertido rápidamente en un extenso campo de investigación con estudios, que van desde la creación de sustitutos para piel hasta el desarrollo de tejido cardíaco funcional. La ingeniería de tejidos en piel, sistema nervioso, sistema osteomuscular (hueso, médula espinal, cartílago), sistema cardiovascular (vasos sanguíneos, válvulas cardíacas y miocardio), epitelio corneal, están dentro de las muchas áreas de investigación actuales de la ingeniería de tejidos (L. L. Y. Chiu et al., 2011). Los primeros tejidos en ser exitosamente reconstruidos mediante técnicas de ingeniería fueron la piel y el cartílago, razón por la cual los avances

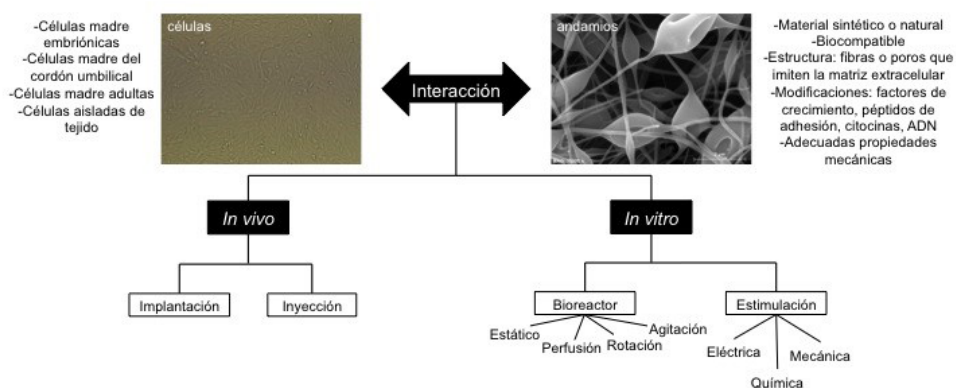
más significativos se han dado en estas dos aplicaciones. Otros tejidos como los vasos sanguíneos o el miocardio son más difíciles de diseñar e incorporar en tejido nativo, ya que contienen múltiples tipos de células, una estructura 3D compleja además de una alta densidad celular (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

Existen tres enfoques principales de la ingeniería de tejidos: el primero consiste en implantar células recién aisladas o cultivadas que pueden ser manipuladas de acuerdo con las necesidades específicas de un paciente para el tratamiento del tejido lesionado antes de la implantación. La segunda estrategia reside en estimular in situ la regeneración tisular implantando andamios o inyectando sustancia de tejido inductor en el tejido lesionado. Para este método se requiere la purificación de las moléculas que inducen el tejido, así como la selección de métodos de entrega apropiados (por ejemplo, liberación controlada, factores solubles). Finalmente, el tercer enfoque consiste en la incorporación de células y biomoléculas en andamios, que son llevados a un biorreactor, para cultivar in vitro en su interior, logrando el diseño de tejidos con cierto grado de función antes de ser implantados (Robert Langer & Vacanti, 1993). En el caso ideal, las células crecen y comienzan a crear tejido dentro del andamio. Una vez el andamio es implantado en el cuerpo, soporta la función, proliferación o diferenciación celular y permite la infiltración de vasos sanguíneos a la vez que se va degradando. Idealmente, el andamio debe degradarse completamente después de que las células se diferencian en el tejido deseado y el tejido comienza a realizar su propia función (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

En resumen, la ingeniería de tejidos requiere (ver Figura 4):

- Una fuente celular expandible en número
- Un andamio adecuado para el tipo específico de tejido
- Bioreactores que imiten el ambiente corporal

Figura 4. La ingeniería de tejidos envuelve la integración de células con andamios seguido de un cultivo in vitro o in vivo, para crear reemplazos funcionales de un órgano dañado



Fuente: elaboración del autor.

Este libro está diseñado para dar al lector una introducción a estos temas y mostrar el desarrollo de las principales aplicaciones.

1.4 Tipos de células usadas en ingeniería de tejidos

El elemento clave de la ingeniería de tejidos es la célula funcional. Las funciones celulares dependen del sistema específico y envuelven una o más de las siguientes características: secreción de matriz extracelular, asociación de las células entre sí, biosíntesis y secreción de proteínas en respuesta a estímulos específicos. Los requerimientos generales para utilizar células en la ingeniería de tejidos son (Nerem & Sambanis, 1995):

- Capacidad de expansión: la función celular debe ser mantenida por un período suficiente
- Biodisponibilidad: deben estar disponibles en cantidades suficientes
- Biocompatibilidad: no deben causar reacciones inmunes adversas

1.4.1 Clasificación por fuente

Las fuentes celulares pueden ser autólogas, alogénicas, o xenogénicas.

1.4.1.1 Células autólogas

Estas células son obtenidas del mismo individuo al que serán reimplantadas, por lo que tienen menos problemas relacionados con rechazo o transmisión de patógenos. Sin embargo, en algunos casos pueden no estar disponibles, como los casos de enfermedades genéticas, personas muy enfermas o de edad avanzada y pacientes que sufren quemaduras graves. En estos casos, las células autólogas no están disponibles en número suficientes para establecer líneas celulares útiles. Adicionalmente, existe el riesgo de infección y dolor en el sitio de extracción (Ueda, 2011). Fuentes comunes de células autólogas son la médula ósea y el tejido adiposo, ya que contienen células madre mesenquimales (MSCs) y se pueden diferenciar en varios tipos de tejidos como hueso, cartílago, grasa y nervio (Psaltis, Zannettino, Worthley & Gronthos, 2008).

1.4.1.2 Células alogénicas

Estas células son aisladas de otro paciente. Comparándolas con las células autólogas, las células alogénicas tienen una probabilidad más alta de causar reacciones inmunológicas. Sin embargo, en casos donde las células autólogas no estén disponibles, estas células son una buena alternativa. Las células mesenquimales del estroma, además de ser una fuente celular autóloga, también han sido usadas como fuente celular alogénica (Psaltis et al., 2008). Las células alogénicas han sido utilizadas para el tratamiento de úlceras en la piel, diabetes y enfermedades del hígado (Griffith & Naughton, 2002). Por ejemplo,

los fibroblastos dérmicos de prepucio humano han sido utilizados para la ingeniería de tejidos de la piel (Muhart, McFalls, Kirsner, Kerdel & Eaglstein, 1997)(Hirt-Burri, Scaletta, Gerber, Pioletti & Applegate, 2008); células humanas de cordón umbilical han sido usadas para fabricar conductos pulmonares humanos con morfología y propiedades mecánicas similares a la arteria pulmonar (Hoerstrup et al., 2002). Aparte de la reacción inmunológica, existen dilemas éticos relacionados con la obtención de células madre embrionarias (CME), una fuente común de células alogénicas. El financiamiento en la investigación de CME fue prohibido en EEUU durante la administración de George W. Bush (2001). Posteriormente, en 2009, la administración de Barack Obama levantó la restricción. Esto generó un retraso importante, de casi un decenio, en el desarrollo de terapias celulares basadas en CME (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.4.1.3 Células xenogénicas

Estas son aisladas y tomadas de un donante de especie diferente. Aunque las células de otras especies animales pueden ser una fuente fiable y abundante de células para la ingeniería de tejidos, siguen siendo una fuente celular controversial debido a los patógenos que pueden ser transmitidos a los humanos. El uso de tejidos animales en humanos puede causar una infección zoonótica y rechazo inmunológico, y en algunos casos puede presentar una limitada capacidad funcional (Edge, 1998). La infección zoonótica se refiere a la transmisión de retrovirus endógenos pertenecientes a las células animales donadas al huésped humano. El rechazo inmunológico se presenta por la alta concentración de anticuerpos de origen animal que son traspasados a los humanos. Los injertos realizados con células xenogénicas tienen capacidad funcional limitada debido a su poca habilidad para sobrevivir al rechazo inmunológico. Sin embargo, injertos de piel de cerdo han sido implantados en pacientes humanos inmunosuprimidos (Schumacher et al., 2000) y otros tipos celulares para el tratamiento de enfermedades como Huntington y Parkinson (Fink et al., 2000), y la diabetes (Groth, 1994). La ingeniería de tejidos plantea la descelularización como otra forma de evitar rechazos inmunológicos por injertos xenogénicos, válvulas de origen porcino y bovino han sido utilizadas por ejemplo para el tratamiento de defectos en el corazón, especialmente en reemplazo de válvulas cardíacas (Steinhoff et al., 2000) (Bertipaglia et al., 2003)(Schoen, 2005).

1.4.2 Clasificación por nivel de diferenciación

Las células también se pueden dividir de acuerdo con su nivel de diferenciación en (i) células específicas de tejido diferenciado, (ii) células progenitoras, y (iii) células madre. Las células madre pueden ser subcategorizadas en células madre embrionarias (CMEs) y células madre adultas. Todos estos tipos pueden proceder de células autólogas, alogénicas o xenogénicas.

1.4.2.1 Células específicas de tejido

Estas son obtenidas como células primarias de tejido neonatal o adulto, su principal beneficio es que no necesitan diferenciarse en el tipo de célula específica para el tejido que se está diseñando. Esto les proporciona una ventaja para la ingeniería de tejidos, puesto que las células ya tienen funciones propias (por ejemplo, el cardiomiocito late espontáneamente). Además, las células diferenciadas a menudo tienen marcadores de superficie y así una población purificada se puede conseguir con relativa facilidad. Sin embargo, las células específicas de tejido a menudo son limitadas en número, especialmente para pacientes humanos y en la mayoría de los casos tienen menor capacidad para proliferar en comparación con las células madre o progenitoras (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.4.2.2 Células progenitoras

Estas tienen la habilidad de diferenciarse en un tipo específico de célula y son guiadas para diferenciarse en el tipo de célula necesaria. En comparación con las células madre, las células progenitoras tienen un potencial de expansión más limitado. Las células progenitoras se obtienen a partir de organismos adultos, su función normal dentro del cuerpo es sustituir las células dañadas o muertas durante la lesión de los tejidos mediante la diferenciación en células específicas, moviéndose hacia el tejido dañado. También juegan un papel importante en el mantenimiento de la sangre, la piel y los intestinos. Las células progenitoras pueden ser diferenciadas antes de ser utilizadas en la ingeniería de tejidos (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.4.2.3 Células madre

Son células inmaduras, primarias o indiferenciadas capaces de hacer copias idénticas de sí mismas y tienen la habilidad de diferenciarse en tipos de células específicas de los tejidos en función de las señales ambientales (Jukes et al., 2008)(Polak, Mantalaris, & Harding, 2008a). Las células madre pueden ser aisladas de varios tejidos y crecer en placas de cultivo celular; con este ambiente de auto-renovación, las células madre pueden ser estimuladas fácilmente y mantenerse durante varias semanas, meses o incluso años, resultando en una amplificación considerable, que en términos de la terapia celular y la ingeniería de tejidos es extremadamente útil (Polak et al., 2008a). Sin embargo, en el cuerpo humano las células madre se dividen con relativa poca frecuencia, permaneciendo inactivas o latentes durante períodos prolongados hasta que reciben el conjunto apropiado de señales para iniciar y detener la división. Este estricto control de auto-renovación in vivo es necesario para asegurarse de que estas células no se dividen indeterminadamente, haciendo que haya demasiado tejido y puedan convertirse en células cancerígenas (Polak et al., 2008a). Es a causa de dichas propiedades que estas células son una fuente celular interesante para los ingenieros de tejidos (Van Blitterswijk et al., 2008).

El potencial de diferenciación de una célula madre se clasifica de la siguiente forma:

- Las células madre totipotentes tienen la habilidad de contribuir en la formación de un organismo entero. Está restringido al óvulo fecundado o cigoto.
- Las células madre pluripotentes pueden formar la mayoría de los tipos de células de un organismo incluyendo las tres capas germinales, pero no los tejidos de la placenta o el cordón umbilical. Cuando estas células son llevadas a un cultivo celular son llamadas células madre embrionarias.
- Las células madre multipotentes tiene la habilidad de formar múltiples tipos de células dentro de un tejido en particular.

Lo que determina la potencia de las células madre depende de su contenido de genes apropiados para activarse o desactivarse y del ambiente en el cual la célula madre esté localizada (Polak et al., 2008a).

Las células madre se pueden dividir en dos grupos principales: células madre embrionarias y células madre adultas. Las células madre embrionarias no existen en el cuerpo. Estas se derivan de la masa celular interna del blastocisto antes de la implantación, y han sido obtenidas a partir de diferentes especies, incluyendo ratones, primates no humanos y seres humanos (G. R. Martin, 1981)(J. A. Thomson et al., 1995)(J. A. Thomson et al., 1998). Estas células pueden generar cualquier tipo celular en todas las tres capas primarias germinales por lo cual se dice que son pluripotentes y no totipotentes (Smith, 1991)(Keller, 2005)(Keller, 1995)(Trounson, 2006). Como existen solo durante un corto periodo, el proceso de aislamiento es crítico. Es importante destacar que las líneas humanas de CME se obtuvieron en 1998, proporcionando una oferta ilimitada de todos los tipos de células somáticas para la ingeniería de tejidos (J. Thomson, Marshall & Trojanowski, 1998). Estas células se han utilizado para diferenciarse en diversos tipos celulares incluyendo precursores de queratinocitos (Ji, Allen-Hoffmann, de Pablo, & Palecek, 2006), células similares al epitelio corneal (Ahmad et al., 2007), neuronas (Schuldiner et al., 2001), cardiomiocitos (Caspi et al., 2007), células osteogénicas (Kim et al., 2008), condrocitos (Koay, Hoben & Athanasiou, 2007) y hepatocitos (Agarwal, Holton & Lanza, 2008).

Las células madre adultas (CMA) se encuentran en muchos tejidos del cuerpo. Estas se dividen y se diferencian para reponer el suministro de células diferenciadas que mueren como parte del “ciclo de vida” natural del tejido o para reparar el tejido dañado. Los tejidos como la sangre, la piel, el hígado, el intestino y los huesos se renuevan y reparan casi constantemente, y si bien la capacidad de mantener y reparar los tejidos disminuye con los años, el hecho de vivir por varias décadas demuestra claramente la capacidad de renovación de las CMA (Polak et al., 2008a). En el cuerpo, las CMA suelen distinguir a un tipo celular particular y estas se asocian generalmente con el tejido en el que se encuentran. En este sentido, las CMA se consideran células multipotentes. Sin embargo,

varias líneas de investigación experimental presentan evidencia que sugiere las CMA como pluripotentes de la siguiente forma:

- Células madre de la médula espinal se han diferenciado en células nerviosas y células madre del cerebro se han diferenciado en células sanguíneas (Polak et al., 2008a).
- Células madre de la médula espinal se han usado en ensayos clínicos para ayudar a promover la reparación del tejido cardíaco dañado después de un ataque al corazón (Milica Radisic et al., 2008).
- La expresión de genes y proteínas asociados con pluripotencialidad han sido detectados en algunas CMA (Schmidt et al., 2004).

1.5 Biomateriales en ingeniería de tejidos

Las células, los andamios y los factores de crecimiento son los tres materiales claves para la ingeniería de tejidos (Ikada, 2006b). Las células a menudo son implantadas o cultivadas en una estructura sintética capaz de soportar la formación de tejido en tres dimensiones (estructuras llamadas típicamente andamios) (H. Patel, Bonde & Srinivasan, 2011), conjunto que es cultivado *in vitro* y finalmente implantado en el cuerpo como una prótesis cuando se encuentra terminado (C. Liu, Xia & Czernuszka, 2007)(Rabkin & Schoen, 2002).

Los andamios (en inglés scaffolds) proporcionan un armazón y un respaldo inicial que facilita el anclaje, la migración y diferenciación celular; sirven como soporte para las células, los factores de crecimiento u otras biomoléculas; permiten la difusión de nutrientes celulares y productos expresados; forman la matriz extracelular (la cual es la encargada de proveer la integridad estructural del tejido) y ejercen influencia mecánica y biológica para modificar el comportamiento de la fase celular (Agrawal & Ray, 2001) (Sachlos & Czernuszka, 2003). Es pues de vital importancia para el andamio imitar la estructura y propiedades de los tejidos humanos ya que así logrará dirigir de mejor forma el proceso de formación de tejido a nivel macroscópico.

Un andamio ideal debería cumplir con las siguientes características (Chan & Leong, 2008):

- Proporcionar un volumen vacío para la vascularización, la formación de nuevo tejido y la remodelación, con el fin de facilitar la integración del tejido huésped tras la implantación. Los biomateriales utilizados deben ser procesados de tal forma que den una estructura suficientemente porosa, que permita el transporte eficiente de nutrientes y metabolitos sin comprometer significativamente la estabilidad mecánica del andamio. Los biomateriales, además, deberán también ser degradables tras la implantación, a una velocidad equivalente a la de la producción de matriz extracelular por el nuevo tejido en desarrollo.
- Proveer apoyo a las células exógenas o endógenas, para unir, crecer y diferenciarse, tanto durante el cultivo *in vitro* como al momento de la implantación *in vivo*. Los biomateriales

usados para fabricar los andamios deben ser compatibles con los componentes celulares de los tejidos diseñados y con las células endógenas en el tejido huésped.

- Interactuar activamente con los componentes celulares de los tejidos diseñados, y así facilitar y regular su actividad. Los biomateriales pueden activar señales biológicas que pueden mejorar la adhesión celular o señales físicas (como la topografía), que pueden influir en la morfología y alineación celular. El andamio puede servir también como un vehículo de suministro o depósito para señales exógenas estimuladoras de crecimiento, tales como factores de crecimiento que lleven a acelerar la regeneración. En este caso específico, los biomateriales tienen que ser compatibles con las biomoléculas y susceptibles a una técnica de encapsulación para la liberación controlada de estas.
- Proporcionar estabilidad mecánica y de forma para defectos que pueda tener el tejido. Las propiedades mecánicas intrínsecas de los biomateriales utilizados para andamios o sus propiedades de post-procesamiento deben coincidir con el del tejido del huésped.

Las propiedades mecánicas, eléctricas y ópticas del material pueden ser controladas cambiando las propiedades físicas y químicas del andamio. Las propiedades deseadas del biomaterial dependerán del tejido a ser reemplazado o reparado (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.5.1 Propiedades

1.5.1.1 Resistencia mecánica

Unos de los atributos más importantes de los andamios es la resistencia mecánica. En general, los andamios deberán tener integridad mecánica para resistir la manipulación durante el trasplante y adicionalmente, deben ser soporte mecánico durante la regeneración tisular. Los andamios, especialmente para el diseño de tejido óseo, deben ser capaces de resistir la carga mecánica para promover su crecimiento. Para pacientes pediátricos, los andamios también deberán someterse a cambios estructurales y biológicos acorde con el desarrollo del infante (Ulrich Meyer et al., 2008).

1.5.1.2 Velocidad de degradación

El andamio debe ser soporte para el crecimiento celular, ser un depósito de matriz extracelular y después degradarse ante la presencia de tejido vivo que lo sustituye. En consecuencia, la velocidad de degradación de los andamios depende de la velocidad de regeneración del tejido a ser reemplazado. Generar degradación por medio de productos puede interferir con el crecimiento celular o llevar a inflamación. Así, cualquier producto debe ser no-tóxico y removible. Por ejemplo, el ácido poliláctico (PLA) es un biomaterial biodegradable comúnmente usado que se degrada para formar ácido láctico, el cual se encuentra naturalmente y puede ser fácilmente removido del cuerpo (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.5.1.3 Porosidad

Este es un factor muy importante que promueve la proliferación y diferenciación celular. La regeneración de tejido *in vivo* y la generación de tejido *ex vivo* podrían ser logradas usando andamios con estructuras porosas óptimas. El tamaño de las estructuras porosas no solo mejora el flujo de fluidos a través del andamio sino que también permite el crecimiento vascular interno (*in vitro*, como también después de trasplantes *in vivo*) y el transporte de nutrientes y metabolitos (Ulrich Meyer et al., 2008). Para una adecuada infiltración celular es necesario contar con alta porosidad. Por el contrario, los andamios con menor tamaño de poro no solo proveen soporte para el crecimiento del tejido sino que también son preferidos en la diferenciación celular (L. L. Y. Chiu et al., 2011). Por ejemplo, un tamaño de poro entre 0.8-8 μm permite la penetración de células huésped (Freed et al., 2006), mientras que para una buena vascularización es necesario un tamaño de poro menor a 250 μm (Laschke et al., 2006).

Todas las propiedades del biomaterial deberán permitir que el andamio se pueda conformar en diferentes geometrías, según se requiera para la regeneración apropiada de tejido (M. Patel & Fisher, 2008). Por ejemplo, los andamios con forma de cubo o disco son usados en hueso, los andamios con forma de tubo son usados para reemplazo de nervio, tráquea y vasos sanguíneos y los andamios planos son usados para la piel, intestino e hígado (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.5.2 Propiedades biológicas

Adicionalmente a las propiedades de los materiales, los andamios deben ayudar a las células a obtener funciones biológicas adecuadas. Los andamios deben ser biomiméticos y similares a la matriz extracelular del tejido a reemplazar. Lo más importante, los andamios deben causar mínimas reacciones inmunológicas y de cuerpo extraño. Deben guiar las células para que crezcan en tejido 3D, permitir la adhesión, supervivencia, proliferación, diferenciación, migración y organización celular tanto en ambientes *in vitro* como *in vivo*. Los andamios también deben conducir a una apropiada morfología celular y producción de matriz extracelular por parte de las células. Por ejemplo, para tejido nervioso, de córnea y del miocardio, la organización y alineación celular juegan un papel importante debido a que sin esta, la función del tejido no se desarrolla adecuadamente (C. Liu et al., 2007).

Estudios recientes se han enfocado en el uso de andamios que suministren una guía celular por contacto para mejorar la alineación celular (Sachlos & Czernuszka, 2003). Adicionalmente, el uso de factores de crecimiento y estimuladores de angiogénesis en andamios permiten la liberación de factores bioquímicos que promueven actividades celulares similares al crecimiento. Los métodos utilizados para la liberación de factores de crecimiento y otras moléculas bioactivas utilizando andamios incluyen la adsorción física, la liberación controlada y la química covalente (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.6 Fabricación de andamios

1.6.1 Tipos de andamios para aplicaciones en ingeniería de tejidos

Los andamios para ingeniería de tejidos pueden ser categorizados en: (i) fibrosos, (ii) porosos e (iii) hidrogeles.

1.6.1.1 Fibrosos

La importancia de los biomateriales fibrosos es que su estructura y diámetro de fibra pueden afectar el comportamiento celular y que el tamaño de poro de la matriz fibrosa regula la organización celular. Sin embargo, este tipo de variables son de difícil control y caracterización (T. Ma, Li, Yang & Kniss, 2000). Los andamios fibrosos pueden imitar fácilmente la matriz extracelular nativa, la cual consiste en proteínas fibrosas en nanoescala estructurales y adhesivas como el colágeno, elastina, fibronectina y laminina (Z. Ma, Kotaki, Inai & Ramakrishna, 2005). En el cuerpo humano, la membrana basal es una estera de 40-120 nm hecha de colágeno tipo IV y nanofibras de laminina que se encuentra debajo de láminas de células epiteliales o endoteliales para separarlos de los tejidos conectivos. Algunas matrices poliméricas de nanofibras pueden ser sintetizadas para tener estructuras físicas similares a las proteínas fibrosas en la matriz extracelular nativa (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.6.1.2 Porosos

Los andamios porosos han demostrado ser muy efectivos en el crecimiento celular para la creación de tejidos funcionales. Los materiales porosos proveen un área de superficie grande para la adhesión celular (Heijkants et al., 2008). La porosidad de los andamios y la interconectividad de los poros dentro de los andamios son importantes para la infiltración de células huésped y la neovascularización, al igual que para soportar la proliferación y diferenciación celular (Chun, Kim & Kim, 2008).

1.6.1.3 Hidrogeles

Los hidrogeles son geles hechos de cadenas de polímeros que se hinchan en soluciones acuosas. Pueden ser naturales o sintéticos y se fabrican mediante la formación de una red de polímero unido covalentemente (Ratner, Hoffman, Schoen & Lemons, 2004). Son considerados mecánicamente estables, fácilmente deformables y que contienen al menos dos componentes: un sólido coloidalmente dispersado con cadenas largas y ramificadas y un líquido dispersante (mayormente agua)(Ulrich Meyer et al., 2008). El componente sólido forma una red tridimensional que es estabilizada por interacciones físicas o químicas entre las moléculas individuales.

Los hidrogeles funcionan sólo como soportes celulares, apoyando el crecimiento tridimensional de las células. Deben ser biocompatibles para evitar la interferencia con la proliferación y el crecimiento de células adheridas. El material hidrófilo debe proporcionar un número suficiente de sitios de adhesión tal que permita el contacto estrecho entre las células y el material. La mayoría de los hidrogeles deben ser químicamente modificados introduciendo ligandos de adhesión celular para cumplir este fin (Ulrich Meyer et al., 2008). Los hidrogeles de origen natural se componen principalmente de polisacáridos, tales como agarosa, alginato, xiloglucano, metilcelulosa, ácido hialurónico y quitosano. Los hidrogeles sintéticos son principalmente de metacrilato o redes de polietileno a base de glicol (Nisbet, Crompton, Horne, Finkelstein & Forsythe, 2008).

Existen diferentes métodos para fabricar andamios, algunos de ellos son: evaporación de solvente/lixiviación de partículas, Inversión de fase/lixiviación de partículas, auto-ensamblado molecular, tecnología de fabricación textil, espumado por gas, separación de fases, emulsificación/liofilización, prototipado rápido y electrohilado, descritas brevemente a continuación.

- *Evaporación de solvente/lixiviación de partículas (Solvent casting/particulate leaching)*
Este método es comúnmente utilizado para la preparación de los andamios. Los andamios producidos por esta técnica se han utilizado en una multitud de estudios de hueso y cartílago con resultados favorables (Kelly & Prendergast, 2006). Este método, descrito por primera vez por Mikos et al. en 1994, se basa en la dispersión de minerales (por ejemplo, cloruro de sodio, tartrato de sodio y citrato de sodio) o partículas orgánicas (por ejemplo, sacarosa) en una solución de polímero. El proceso de dispersión se realiza comúnmente utilizando el método de separación de fases para producir estructuras porosas (Ulrich Meyer et al., 2008). Sin embargo, a pesar del método ser usado especialmente para fabricar andamios de poliácido-L-láctico (PLLA) y poli-láctico-co-glicólico (PLGA) con relativa facilidad de fabricación, tiene algunas desventajas inherentes, tales como el posible uso de disolventes altamente tóxicos (Cheung, Lau, Lu & Hui, 2007), lo que limita la producción de andamios delgados (Byrne, Lacroix, Planell, Kelly & Prendergast, 2007) y deteriora las propiedades mecánicas (Cheung et al., 2007).
- *Inversión de fase/lixiviación de partículas (Phase inversion/particulate leaching)*
Este método es relativamente cercano a la técnica de evaporación de solvente. La diferencia radica en que en lugar de permitir que el solvente se evapore, en esta técnica, la película se coloca en agua y la inversión de fase posterior hace que el polímero sea precipitado (T. M. G. Chu, Orton, Hollister, Feinberg & Halloran, 2002). La principal ventaja para los propósitos de ingeniería de tejidos en comparación con el método de evaporación de solvente es que se evita el depósito de cristales y por lo tanto, permite la producción de andamios más gruesos. Desde un punto de vista técnico se ha demostrado que usando la inversión de fase, los andamios mejoran la interconectividad y la morfología (Ulrich Meyer et al., 2008).

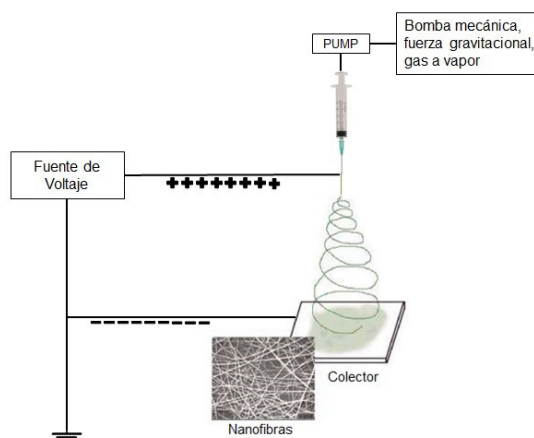
- *Auto-ensamblado molecular (molecular self-assembly)*
La técnica está mediada por una combinación de enlaces no covalentes, tales como puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals (Zhang, 2003). Las biomoléculas como péptidos y proteínas se auto-ensamblan en estructuras específicas. Del mismo modo, estructuras moleculares diversas pueden ser fabricadas por auto-ensamblaje de péptidos, proteínas y lípidos. Estas mallas tienen altos volúmenes vacíos y fibras con diámetros similares a los de las células, es decir: 10-20 μm (Freed et al., 2006).
- *Tecnología de fabricación textil (Textile fabrication)*
Es una técnica usada para fabricar mallas de fibras no tejidas. El principio parte de que fibras continuas con micro-diámetros pueden ser producidas extruyendo un polímero disuelto o una solución de polímero a través de una hiladora y dibujándola mecánicamente en una bobinadora, o una serie de bobinadoras, para así ser colectados en un carrete. El diámetro de la fibra es determinado por la razón de extrusión y la velocidad de los bobinadores con una tasa constante para alcanzar el diámetro uniforme y las fibras continuas. La extrusión afecta la cristalinidad del polímero, además de la fuerza mecánica y el comportamiento de degradación (Van Blitterswijk et al., 2008). Mallas no tejidas compuestas de fibras de ácido poliglicólico (PGA) han sido utilizadas en la regeneración de tejidos de cartílago, tendón, intestino, vasos sanguíneos y válvulas cardíacas. Sin embargo, estos andamios no tejidos tienen baja resistencia mecánica y un tamaño de poro irregular (P. X. Ma, 2004).
- *Espumado por Gas (Gas foaming)*
La técnica de espumado por gas permite la formación de solvente libre en materiales porosos a través de la generación de burbujas con gas dentro del polímero. Los polímeros moldeados pueden ser presurizados con un gas (típicamente CO_2) hasta que el polímero es saturado. La liberación de la presión resulta en crecimiento y nucleación de las burbujas de aire dentro del material. Estas burbujas alcanzan hasta 100 μm . Sin embargo, la interconectividad es necesaria para las estructuras celulares y no siempre se alcanza a niveles altos. Esta técnica se puede combinar con lixiviación de partículas para mejorar la interconectividad entre los poros (Van Blitterswijk et al., 2008)(Harris, Kim & Mooney, 1998).
- *Separación de fases (phase separation o freeze drying)*
Este es uno de los métodos más ampliamente utilizado para la preparación de andamios porosos y parte del principio de la inducción térmica. En este, se baja la temperatura de la solución para inducir la separación de fases de la solución de polímero homogénea. El mecanismo de separación de fase puede ser líquido-líquido desmezclado, el cual genera fases líquidas con diversas cantidades de polímero. Por otra parte, cuando la temperatura está lo suficientemente baja para permitir que la solución se congele, el mecanismo de separación de fase sería sólido-líquido desmezclado, el cual forma

fases de polímeros concentrados y solventes congelados (Ikada, 2006d). Mediante el ajuste de la concentración del polímero, usando diferentes disolventes o variando la velocidad de enfriamiento, la separación de fases podría ocurrir a través de diferentes mecanismos, lo que resulta en la formación de estructuras con diferentes morfologías. La técnica por separación de fases es uno de los métodos más ampliamente utilizados para producir matrices con más de 90% de porosidad. Los tamaños de poro dependerán de la tasa de crecimiento de cristales de hielo durante el proceso (Ikada, 2006d).

- *Emulsificación/liofilización (Emulsification/freeze-drying)*
Esta técnica es usada para la fabricación de andamios altamente porosos. El método de procesamiento consiste en la creación de una emulsión por homogenización de una solución de polímero (en un disolvente orgánico) mezclado con agua y enfriada rápidamente la emulsión para bloquear la estructura en estado líquido y retirar el disolvente y el agua mediante liofilización. Esto resulta en un polímero sólido con una porosidad de 90-95%. Una desventaja de esta técnica es la estructura de poro cerrado en la matriz resultante, impidiendo la proliferación y migración celular (Whang, Thomas, Healy & Nuber, 1995)(Nam & Park, 1999)(M. Patel & Fisher, 2008).
- *Prototipado rápido (Rapid prototyping)*
Esta técnica permite la producción de estructuras de andamiaje ordenadas externa e internamente. Las principales ventajas de esta técnica con respecto a las técnicas convencionales son: la posibilidad de fabricar estructuras externas e internas definidas para andamios, el proceso de fabricación es controlado por ordenador mejorando la exactitud del proceso y la eventual agrupación de los andamios con las células. El prototipado rápido es un método que no solo puede individualizar los defectos de la geometría externa e interna, sino que también puede prever en el futuro el control de andamios nanoestructurales anisotrópicos (Ulrich Meyer et al., 2008).
- *Electrohilado (Electrospinning)*
Este proceso, patentado por Formhals en 1934, ha ganado popularidad en los últimos diez años y ha sido usado en ingeniería de tejidos vascular, óseo, nervioso y de tendón (Braghirolli, Steffens & Pranke, 2014). La técnica de electrospinning proporciona un mecanismo para la producción de andamios fibrosos, ya sea de polímeros sintéticos o naturales, alta porosidad, una amplia distribución de diámetros de poro, una alta relación de volumen por superficie de área y similitudes morfológicas con las fibras de colágeno natural (Rogina, 2014). Los diámetros de las fibras están en el intervalo de varios micrómetros hasta menos de 100 nm. El proceso de electrospinning es una técnica de hilado de fibras accionado por un campo electrostático de alto voltaje utilizando una solución polimérica o líquida. La física subyacente a esta técnica se basa en la aplicación de una fuerza eléctrica, especialmente cuando en la superficie de la gota del polímero se supera la fuerza de tensión superficial y un chorro cargado es expulsado. Como el disolvente se evapora, la densidad de carga aumenta en las fibras, resultando en un chorro inestable, que se extiende sobre las fibras más de un

millón de veces. Las variables que controlan el comportamiento del chorro de fluido electrificado durante electrospinning se puede dividir en las propiedades del fluido y parámetros de operación. Las propiedades relevantes de los fluidos son la viscosidad, conductividad, constante dieléctrica, punto de ebullición y tensión superficial. Los parámetros de funcionamiento incluyen el flujo, potencial eléctrico generado y la distancia entre la punta emisora y el colector llamado “air gap” (L Bosworth & Downes, 2011). El producto final del electrospinning generalmente consiste en redes de fibras interconectadas al azar con tamaño submicrométrico. Los andamios nanofibrosos formados con electrospinning poseen una estructura similar a la matriz extracelular convirtiéndolos en una promesa para la ingeniería de tejidos (ver Figura 5) (Mitchell & Davis, 2011)(Pawlowski, Barnes, Boland, Wnek & Bowlin, 2011).

Figura 5. Proceso esquemático del electrohilado



Fuente: elaboración del autor

1.7 Bioreactores

Los biorreactores son la herramienta primaria para imitar el ambiente fisiológico que proporcione a los constructos basados en células, estímulos relevantes que faciliten y organicen la conversión de un cultivo celular dentro de un fenotipo de tejido específico (Freshney, Obradovic, Grayson, Cannizzaro & Vunjak-Novakovic, 2007). Durante las dos últimas décadas, los biorreactores han evolucionado la investigación de la ingeniería de tejidos, a través de diseños que representan el funcionamiento de tejidos biológicos in vitro (por ejemplo piel, tendones, vasos sanguíneos, cartílago y hueso) y de sistemas que soportan investigaciones que relacionan la función celular y el desarrollo de tejidos (Ulrich Meyer et al., 2008).

Los biorreactores proporcionan un lugar central en el que convergen factores de crecimiento, citoquinas, estímulos eléctricos, mecánicos y topográficos necesarios para

estimular el ensamble de los tejidos (Freed et al., 2006)(I. Martin, Wendt & Heberer, 2004). En teoría, cada parámetro puede ser modificado para estudiar su influencia en el crecimiento de diferentes tejidos y en las propiedades finales del constructo regenerado (Bilodeau & Mantovani, 2006).

Los biorreactores deben satisfacer algunos requisitos básicos en materia de diseño de ingeniería y principios biológicos. Deben involucrar seguridad, fiabilidad, reproducibilidad y escalabilidad, además de poseer sistemas de control seguros (Pörtner, Nagel-Heyer, Goepfert, Adamietz & Meenen, 2005)(H. Chen & Hu, 2006) y deben tener la capacidad para funcionar asépticamente y proporcionar un entorno estéril para constructos de tejidos. Deben proveer las condiciones ambientales apropiadas y óptimas para la maduración del constructo, así como proporcionar efectivamente los nutrientes esenciales tales como glucosa, oxígeno y factores de crecimiento y permitir la distribución y densidad de células deseadas de todo el constructo (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

En general, los biorreactores pueden ser agrupados en dos grandes clases. La primera consta del biorreactor de ingeniería-tejido, el cual incorpora un entendimiento cuantitativo de las características estructurales y ambientales del tejido dentro de su diseño total. Estos pueden ser diseñados para regular los microambientes celulares y facilitar la viabilidad celular de manera completa y uniforme. Algunos requerimientos claves de los reactores incluyen: (1) mejor respuesta célula-andamio 3D, (2) mejora en la transferencia de masa, (3) intercambio adecuado de gas para el medio de masa de cultivo, (4) reposición periódica del medio gastado, (5) control de pH y temperatura, (6) estímulo fisiológico (Obradovic, Martin, Freed & Vunjak-Novakovic, 2003)(G Vunjak-Novakovic, Obradovic, Martin & Freed, 2002).

La segunda clase de biorreactores están dirigidos a optimizar las variables prioritarias del proceso hacia las aplicaciones reales de la ingeniería de tejidos. Ellos son particularmente ventajosos para economizar las células requeridas y llevar el trabajo del laboratorio a las aplicaciones reales. Los biorreactores son típicamente diseñados como elementos modulares, miniescalares y multi paramétricos. La organización espacial 3D de las células no es crítica en estos reactores y no son típicamente células de tejido específico. Los sistemas pueden ser usados por ejemplo, para investigar efectos de niveles de oxígeno o tensiones de cillazamiento en la supervivencia, proliferación o interacción de células en superficies planas y pueden también probar rangos para optimizar condiciones en pequeñas escalas (Freshney et al., 2007).

Algunos de los problemas más comunes en los biorreactores, se asocian a la transferencia de masa (nutrientes esenciales y moléculas) al constructo. La transferencia de masa ocurre más a menudo por medio de difusión a través del constructo, pero esto solo es efectivo en distancias de 100-200 μm a densidades celulares fisiológicamente relevantes ($\sim 10^8$ células cm^{-3})(Pörtner et al., 2005). Varios estudios han demostrado que constructos

más gruesos a menudo tienen centros necróticos o acelulares, en gran parte debido a la hipoxia (Milica Radisic, Deen, Langer & Vunjak-Novakovic, 2005)(Milica Radisic, Malda, et al., 2006). Los constructos clínicamente relevantes requieren espesores del orden de milímetros, de donde la difusión por sí sola no será suficiente para la transferencia de masa de nutrientes a los constructos gruesos. A este respecto se han planteado como soluciones, el flujo convectivo utilizado a través de biorreactores rotatorios o de perfusión y el diseño de constructos, que incluyan redes pre-vasculares (Levenberg et al., 2005) o redes vasculares biomiméticas (Milica Radisic, Park et al., 2006). Asegurarse de que el constructo entero recibe los nutrientes adecuados, es el eje de funcionamiento de los biorreactores.

Otros problemas asociados con los biorreactores incluyen la siembra de células y la estimulación mecánica, eléctrica o topográfica oportuna. Para constructos de ingeniería de tejidos, las células se siembran a densidades apropiadas y se distribuyen uniformemente en todo el constructo. El uso de estímulos apropiados para los constructos bien sembrados, imita mejor el ambiente del tejido nativo y como tal, debería promover un mejor ensamblaje del tejido en el biorreactor. La estimulación mecánica, en forma de flujo de fluido, estiramiento o compresión, es también una clave para la maduración del tejido, ya que todas las células responden a estímulos mecánicos (L. L. Y. Chiu et al., 2011). Hay varios tipos de biorreactores en uso: algunos son más genéricos con una amplia aplicabilidad, mientras que otros tienen aplicaciones más específicas a los tipos de tejido. En cualquier caso, la elección de un biorreactor depende de los requisitos específicos del tejido. Es importante tener en cuenta que los diversos tejidos tienen diferentes requisitos, ya que el cuerpo humano es complejo y posee señales microambientales características de cada tejido y órgano (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.7.1 Sistemas de biorreactores

Desde el punto de vista técnico, los biorreactores pueden ser clasificados de acuerdo con las propiedades ambientales diseñadas. Los biorreactores conectados a los puertos y filtros para el intercambio de gases, pueden ser considerados más “sistema cerrado” comparado con frascos y platos convencionales. Los “sistemas abiertos”, tal como sistemas de plato de cultivo, requieren manipulación manual individual de intercambio de medio, siembra celular y así sucesivamente, que en última instancia limita su utilidad cuando altos estándares de fabricación (tales como usos clínicos) son requeridos.

Los sistemas de biorreactores cerrados ofrecen las mayores ventajas, dado que puede asegurar la esterilidad y mantener la viabilidad del tejido producido. De la misma forma pueden ser ajustadas automáticamente la reproducibilidad y la estandarización del proceso, reflejadas en las condiciones de cultivo tales como temperatura, pH, nutrientes y suministro de oxígeno. Una mejora en los diseños de los biorreactores puede ser la adición de dispositivos que lean el estado de maduración de las células, a partir de

herramientas de análisis y vigilancia no destructivas de las variables del proceso relacionadas con el material (respuestas mecánicas, degradación), variables biológicas (conteo celular, diferenciación celular) y variables metabólicas (pH, concentración de oxígeno, concentración de nutrientes) útiles para ajustar las condiciones de cultivo a las necesidades del tejido deseado.

Técnicas avanzadas de monitoreo del desarrollo de los constructos tales como medición de oxígeno, monitoreo de sustrato, determinación de flujo, microscopía de fluorescencia, tomografía micro computarizada, ya han sido introducidas en la fabricación de varios productos de ingeniería de tejidos.

1.7.1.1 Biorreactores básicos

Los discos y frascos de cultivo son el tipo de bioreactor más simple y más ampliamente usado en muchas de las técnicas recientes de ingeniería de tejidos. Su principal ventaja es su fácil manejo y su construcción económica (R. Langer & Vacanti, 1993). Sin embargo, estos son limitados particularmente al considerar construcciones tridimensionales, como la de tejido de hueso. La mayor ventaja del cultivo celular en monocapas es que las células no se limitan en nutrientes y puede alcanzarse una rápida multiplicación celular con difusión pasiva, adicionalmente la pequeña distancia de difusión en monocapa (menor de 100-200um) hace que el suministro de oxígeno y nutrientes solubles no sean un punto crítico. Sin embargo, las células creciendo en múltiples capas o localizadas en andamios presentan accesos a sustratos, moléculas de señalización, factores de crecimiento y nutrientes (oxígeno, glucosa, aminoácidos y proteínas) y padecen el aclaramiento por productos metabólicos del metabolismo (CO₂, lactato y urea), condiciones críticas para la supervivencia celular (Ulrich Meyer, Meyer, Handschel & Wiesmann, 2009)(Gordana Vunjak-Novakovic, 2003).

1.7.1.2 Biorreactores complejos

Cuando las células se encuentran en sistemas de andamios más complejos, el medio nutritivo, incluso cuando se agita, se limita por lo general a las superficies exteriores o los poros del andamio. Más aún, cuando son fabricados constructos multicelulares (por ejemplo, para co-cultivos de osteoblastos y células endoteliales), las células compiten con las diversas fuentes celulares que se encuentran dentro del andamio. Con esta consideración, algunos de los nuevos desarrollos en sistemas de biorreactores son fabricados para mejorar la supervivencia celular en andamios más complejos (Ulrich Meyer, Meyer, Handschel & Wiesmann, 2009).

Para la supervivencia de tejido sustituto en constructos ampliados, factores como la concentración de oxígeno y de nutrientes, la relación entre medio y volumen celular, el requerimiento de oxígeno y consumo de las células, la eliminación de metabolitos y los fluidos dentro del sitio, tienen un impacto dramático en el crecimiento del tejido.

Poder controlar estos elementos representarían importantes moduladores para los biorreactores.

En la optimización de un biorreactor para ingeniería de tejidos, se debe tratar cuidadosamente el equilibrio entre el grado de aporte de nutrientes, el transporte de metabolitos hacia y lejos de las células, y los efectos de cizalla de estrés inducida por el fluido sobre las células situadas en la superficie y en las estructuras porosas del andamio (Ratcliffe & Niklason, 2002). Al considerar nutrición celular, es importante notar que la estructura y porosidad del material del andamio, el total de la célula o el tamaño del constructo del andamio y la difusión a través del biomaterial, también influye y regula la viabilidad celular en los biorreactores.

Una de las últimas mejoras realizadas a sistemas de biorreactores fue la implementación de un ambiente de flujo laminar dinámico. Este sistema se mostró exitoso en la reducción de las limitaciones disfuncionales relacionadas con nutrientes y metabolitos, permitiendo así la fabricación de tejido equivalente de condrocitos y osteoblastos (Risbud & Sitter, 2002). Otro de los sistemas consistió en la implementación de biorreactores de perfusión directa, cuya aplicación logró mejorar la matriz de síntesis de cartílago por condrocitos y crecimiento, diferenciación y deposición de matriz mineralizada para células de hueso (U Meyer, Joos & Wiesmann, 2004).

A continuación se presentan las características de los principales tipos de biorreactores: (i) biorreactores estáticos, (ii) biorreactores rotatorios, (iii) biorreactores de perfusión, (iv) biorreactores de estímulos eléctricos, y (v) biorreactores de estímulos mecánicos (ver Figura 6).

1.7.1.3 Biorreactor estático

La clase más simple de biorreactores está representada por los biorreactores estáticos. En este sistema, el constructo células-andamios es colocado en una placa multipozos, una placa de Petri o un frasco-T, suplementado con medio de cultivo y puesto en una incubadora. Los biorreactores estáticos son fáciles de usar, de bajo costo y desechables (Pörtner et al., 2005). Los nutrientes y estímulos moleculares que promueven el anclaje celular están presentes en el anclaje células-andamios a través de difusión aleatoria. Uno de los inconvenientes principales de los biorreactores estáticos es la difusión aleatoria, puesto que es ineficiente en la entrega de nutrientes a través de los constructos de células-andamios (la cual es solo efectiva sobre constructos de espesores entre 100-200 μm) (Pörtner et al., 2005). Ya que los constructos de tejido clínicamente pertinente requieren espesores de varios milímetros, los biorreactores estáticos no son adecuados para cultivar grandes números de células o grandes constructos.

Otra dificultad de los biorreactores estáticos está asociada a la siembra de las células. Típicamente, las células son inyectadas directamente en el andamio para luego cultivarlas

en el biorreactor. Este proceso a menudo resulta en una baja densidad de sembrado y una distribución heterogénea de las células. Colocando un biorreactor estático en un vibrador orbital se puede mejorar la distribución de células ligeramente, pero no tan bien como los sistemas rotativos o los sistemas de perfusión. Debido a la gravedad, las células forman a menudo un tejido fino en la base del andamio en biorreactores estáticos (Freed et al., 2006).

A pesar de estas dificultades, los biorreactores estáticos se utilizan todavía ampliamente en la investigación de ingeniería de tejidos. Cabe señalar que los biorreactores estáticos han sido utilizados en aplicaciones clínicas para tejidos de la vejiga (Atala, Bauer, Soker, Yoo & Retik, 2006), el cartílago (Marcacci et al., 2005) y los vasos sanguíneos (Shin'oka et al., 2005), todos ellos con resultados prometedores.

1.7.1.4 Biorreactores rotatorios

El uso de movimiento rotacional en los biorreactores tiene dos propósitos: (i) mejorar la entrega de nutrientes al constructo células-andamio por medio de flujo convectivo rotativo, y (ii) mejorar la densidad y distribución de las células sembradas. Estos biorreactores son usados principalmente para el cultivo de tejidos frágiles (Bilodeau & Mantovani, 2006). Existen varios tipos de biorreactores rotatorios, frasco de agitación (spinner flasks), tambores rotativos (rotating vessels) o incluso una placa de cultivo colocada en un agitador orbital ó vortex (orbital shaker).

El frasco de agitación: es un recipiente cilíndrico de vidrio con el constructo de células suspendido en el medio con un impulsor que garantiza la mezcla del medio y una distribución homogénea del oxígeno disuelto, y otros nutrientes necesarios en el medio de cultivo (Griffith & Naughton, 2002). Con la mezcla, la capa estancada alrededor del constructo celular se reduce significativamente, lo que permite más concentración de oxígeno y nutrientes en la superficie del constructo celular. Por lo tanto, el cultivo 3D en el frasco de agitación mejora, en alguna medida, la homogeneidad del tejido, la viabilidad y la proliferación y diferenciación celular (van Winterswijk & Nout, 2007)(Fore-Pfliger, 2004). Sin embargo, en los constructos celulares con un espesor mayor a 200 μm , las células internas se siguen muriendo. Además, cultivar dentro del frasco de agitación somete a las células a un esfuerzo cortante elevado, debido a la turbulencia y remolinos dentro del recipiente (Polak et al., 2008a).

Tambores rotativos: este sistema permite el cultivo de células en 3D bajo una mezcla de medio con un estrés mínimo de cizallamiento. El biorreactor gira alrededor de su eje horizontal, mientras se mantiene el constructo celular en un estado de caída libre. En el recipiente, el flujo del fluido es generado por la sedimentación de los constructos celulares, lo cual es asociado con oscilación, volteo, formación de estelas o raíces y emisión de vórtices (Bilodeau & Mantovani, 2006). Además, los tambores rotativos tienen una membrana tubular coaxial de silicona para la oxigenación eficiente del medio. Existen dos variedades de tambores rotativos las cuales son tambor de movimiento lateral lento (slow

lateral turning vessel - SLTV) y el tambor de perfusión rotativo (rotating wall perfused vessel - RWPV)(H. Chen & Hu, 2006).

Los biorreactores rotatorios también se han utilizado en el diseño de tráquea (Macchiarini et al., 2008) y válvulas cardíacas (Cebotari et al., 2006), ambos utilizados en ensayos clínicos (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.7.1.5 Biorreactores de perfusión

El uso de sistemas de perfusión en los biorreactores pretende mejorar el transporte de masa de nutrientes y oxígeno de los constructos de los tejidos, mediante el uso de flujo de convección. Los esfuerzos cortantes producidos por el fluido también pueden proporcionar estímulos mecánicos apropiados para mejorar el anclaje de los tejidos. In vivo, la perfusión es el proceso de entrega de nutrientes de la sangre de las arterias a los tejidos por medio de los capilares. Ex vivo, la perfusión describe la transferencia de medio de cultivo directamente a través de una matriz porosa con células sembradas (L. L. Y. Chiu et al., 2011)(Polak et al., 2008a).

Con un control apropiado, el cultivo celular 3D con biorreactores de perfusión ha demostrado ser superior a otros biorreactores convencionales. Por ejemplo, el cultivo 3D en biorreactores de perfusión mantiene mucho mejor la viabilidad celular (Dvir, Benishti, Shachar & Cohen, 2006)(Pei et al., 2002)(Gerecht-Nir, Cohen & Itskovitz-Eldor, 2004), promueve la proliferación y diferenciación de células madre mesenquimales, promueve la secreción de albumina por hepatocitos (Powers et al., 2002), incrementa la síntesis de glicosaminoglicanos por los condrocitos (Seidel et al., 2004) y mejora la expresión de marcadores cardíacos específicos y características estructurales en constructos cardíacos (Carrier et al., 2002).

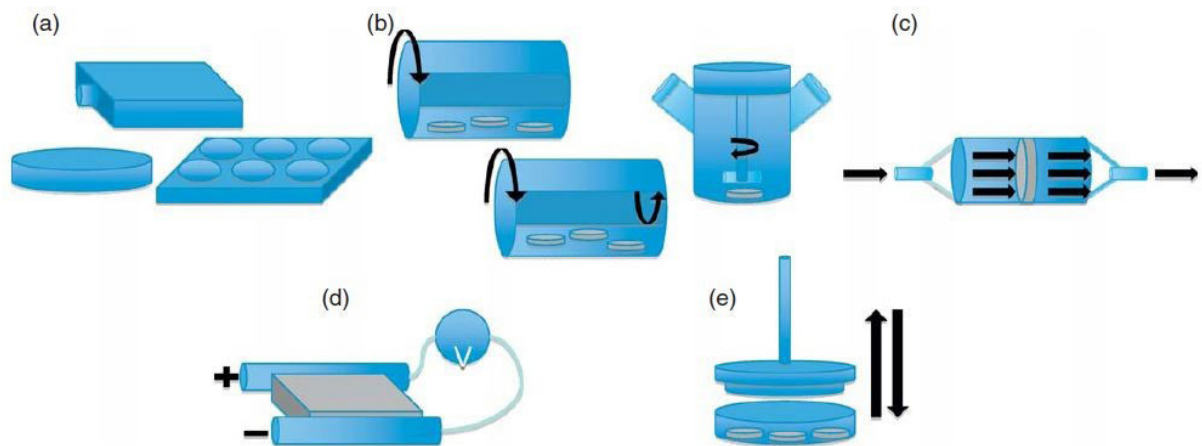
1.7.1.6 Biorreactores de estímulos eléctricos

Los biorreactores pueden ser usados para aplicar estímulos eléctricos y promover el anclaje de tejidos excitables. In vivo, muchos procesos fisiológicos, tales como desarrollo embrionario y cardíaco, además de cicatrización de heridas, están influenciados por actividades eléctricas. En el miocardio, por ejemplo, la contracción es dirigida por ondas de excitación eléctrica generadas por un número de células rítmicas. Los biorreactores utilizados son bastante sencillos: los constructos se posicionan entre dos electrodos conectados a un estimulador eléctrico. Los regímenes de estimulación pueden ser elegidos para parecerse al miocardio nativo en términos de voltaje, frecuencia y duración de pulso. A pesar de que este tipo de biorreactor ha sido utilizado para la activación de células cardíacas principalmente, su potencial sobre otros sistemas celulares es alto, dadas las características eléctricas de todos los tejidos; de manera particular se podrían esperar mejores resultados en osteoblastos, células dérmicas y epidérmicas y neuronas, cuya actividad eléctrica es más notoria (L. L. Y. Chiu et al., 2011).

1.7.1.7 Biorreactores de estímulos mecánicos

Los biorreactores deben aplicar estímulos mecánicos apropiados, correspondientes a los requerimientos del tejido funcional particular. Dado que las células son muy sensibles a estímulos mecánicos, a través de la mecanotransducción pueden ser modificadas la función y morfología celular, dando lugar a cambios en los tejidos (Ethier & Simmons, 2007). Sin el apropiado estímulo mecánico, las células no proliferan y no se ensamblan en un tejido organizado (Bilodeau & Mantovani, 2006). Los estímulos mecánicos a los que las células se someten comúnmente son la velocidad del fluido, estiramiento y compresión.

Figura 6. Biorreactores para ingeniería de tejidos. a) Biorreactores estáticos tales como placas de Petri, frascos T; b) Biorreactores rotatorios como tambores rotativos y frascos de agitación, los cuales proveen un ambiente de cultivo dinámico al constructo; c) Biorreactor de perfusión; d) Biorreactor de estímulos eléctricos, y e) Biorreactor de estímulo mecánico



Fuente: L. L. Y. Chiu et al., 2011.

1.7.2 Conceptos teóricos de biorreactores futuros

Los conceptos teóricos de biorreactores futuros pueden ser útiles para el diseño y procesos de fabricación de las nuevas generaciones de biorreactores. Los modelos matemáticos, por ejemplo, han comenzado a ofrecer posibilidades en la oferta de nutrientes celulares o en los andamios construidos, así como en calcular las condiciones del flujo difusión-relación en estructuras profundas de materiales.

Con la ayuda de herramientas computacionales, se pueden calcular las variables de flujo de campo, esfuerzos de corte y transporte de masa en biorreactores con presencia de andamios. Los desarrollos matemáticos permiten a los investigadores determinar la relación entre transporte de masa y viabilidad celular así como calcular el momentum y

transporte de oxígeno con biorreactores cilíndricos concéntricos. Muschler et al, a partir de un sistema de ecuaciones diferenciales calcularon la relación entre densidad celular, distancia de difusión y viabilidad celular en materiales (Muschler, Nakamoto & Griffith, 2004), los resultados arrojaron que al aumentar el tamaño del andamio en un factor de 5, la concentración máxima oxígeno liberado se reducía 25 veces.

La complejidad de modelos de nutrición celular se hace evidente al considerar la supervivencia celular dependiente de la presión de oxígeno, la liberación, consumo y renovación de nutrientes y los productos metabólicos (Plate, Polifke, Sommer, Wünnenberg & Wiesmann, 2006). La difusión de oxígeno y el transporte de otros nutrientes (e.g. glucosa y aminoácidos) hacia y desde las células se hace relativamente más lenta en algunos biomateriales. Por estas circunstancias, el desarrollo de modelos matemáticos que permitan simular o estimar reacciones celulares y otros fenómenos de biotransporte relacionadas con nutrición junto con datos experimentales que permitan alimentar y comparar dichos modelos, son de especial relevancia.

Los modelos matemáticos son también importantes en la valoración del ambiente micromecánico celular, ya que ayudan a mejorar la comprensión global de efectos micromecánicos a diferentes niveles estructurales (monocapa, múltiple capa, constructos de tres dimensiones). Así, en el diseño y desarrollo de biorreactores de carga se debe considerar la presencia de pequeñas deformaciones generadas en las células debido a la transferencia de carga a través del andamio y la superficie del sustrato. Es importante tener en cuenta que dichas deformaciones tienen un efecto profundo en el comportamiento celular (Rubin & Lanyon, 1987) y en la posterior evaluación de las deformaciones a distintos niveles jerárquicos.

Una de las técnicas más usadas para la creación y análisis de modelos matemáticos es el análisis por elementos finitos (FEA). Esta técnica permite definir deformaciones y campos de tensión, que en trabajos experimentales no pueden conseguirse, tales como deformaciones de cargas relacionadas en el microambiente de una célula contenida en un andamio. Sin embargo, como toda aproximación computacional, la exactitud de FEA es limitada, para el caso de modelamiento de andamio, por ejemplo, estos son normalmente considerados como estructuras homogéneas, cuando la realidad es que los andamios con contenidos celulares son bastante complejos más aun cuando se incluyen sistemas biorreactores. Sin embargo y a pesar de estas limitaciones, los cálculos de diversas variables en los sistemas parecen reflejar comportamientos reales que permiten discriminar y aproximar respuestas de cargas fisiológicas y no fisiológicas (Winston, Macarak, Gorfien & Thibault, 1989).

1.8 Consideraciones éticas

Ya que la ingeniería de tejidos es un campo en constante desarrollo, debe ir de la mano con la aplicación de estándares éticos.

Existen unos principios básicos de la ética que aplican directamente al campo del cuidado de la salud (Childress, 1989)(Patrick et al., 1998):

- Principio de la no maleficencia: el deber o la obligación de no causar ningún daño. Este deber se incluye a veces en la beneficencia.
- Principio de la beneficencia: el deber o la obligación de beneficiar a los demás, a hacer lo que es bueno para ayudar a otros más lejos que sus propios intereses legítimos.
- Principio de autonomía: el deber o la obligación de promover en los demás la propia determinación.
- Principio de justicia: el deber o la obligación de asignar las cargas sociales y beneficios equitativamente entre todas las personas.
- Principio de racionalidad: el deber y la obligación de hacer esos actos en los cuales usted puede dar razones y justificarlas.

El Código de Nuremberg, creado posterior a la segunda guerra mundial, demarca las directrices para la investigación en humanos y es la base actual de las normas éticas para ensayos en humanos (Patrick et al., 1998).

Se realiza el supuesto de que cada proyecto de investigación que se realice en la ingeniería de tejidos se ajustará a los principios éticos discutidos. En concreto, ningún proyecto de investigación debe comenzar lo que no es justificable ni racional en su método científico, enfoque y aplicación. Además, la importancia del principio de universalidad siempre se debe considerar cuando se diseña un constructo o un ensayo clínico. Este principio requiere que todos los grupos étnicos, razas y sexos se incluirán en la investigación. Si uno de estos grupos es excluido, la justificación de esta exclusión es necesaria. Sin embargo, al considerar estos principios, el individuo debe ser la principal preocupación.

El campo de la ingeniería de tejidos ha contribuido al avance del campo de la cirugía de xenotrasplantes, que resulta una modalidad de tratamiento propuesta para complementar los trasplantes heterólogos. Originalmente se pensó que los primates no humanos, específicamente mandriles, eran candidatos ideales para xenotrasplantes. Sin embargo, las preocupaciones sobre el riesgo de enfermedades infecciosas, el hecho de que varias especies de primates están en peligro, y el incremento en número y adeptos de movimientos animalistas, así como la adopción por parte de varios países de la Declaración Universal de los Derechos de los Animales, para justificar la cría de ellos como donantes de órganos ha llevado a buscar fuentes alternativas de órganos. Una de las fuentes más utilizadas de órganos para la implantación en humanos es el cerdo, pues se han usado exitosamente como donantes de tejido durante más de 25 años. Los cerdos transgénicos con ADN humano se han desarrollado para reducir e incluso eliminar el rechazo inmunológico (Bisbee, 1994)(Dillner, 1996)(Concar, 1994)(Pierson, White & Wallwork, 1993).

Los xenotrasplantes plantean muchas preguntas, algunas de ellas son (Patrick et al., 1998):

- ¿Podría llegar a prevenirse la introducción de patógenos animales peligrosos en la población humana, luego de un trasplante?
- ¿Encuentra la sociedad aceptable la idea de trasplantar órganos de animales en humanos?
- ¿Los animales deberían ser utilizados en todas las investigaciones?
- ¿Está la xenotrasplatación científicamente justificada?

Estas inquietudes han sido valoradas como muy importantes a la hora de discutir los xenotrasplantes. De acuerdo con los principios de no maleficencia y autonomía, los derechos de los pacientes sometidos a xenotrasplante deben ser protegidos. Mientras que el paciente tiene el derecho a participar en una investigación (autonomía), los investigadores no deben poner en peligro innecesariamente su vida (no maleficencia). Salvo que la calidad de vida del paciente sea mantenida o mejorada. Con los desarrollos en ingeniería de tejidos existe la idea de que a través del desarrollo y perfeccionamiento de los productos se llegue a la posibilidad de aumentar el número de órganos disponibles para trasplante. Así, mediante la creación de un xenotrasplante biocompatible, un paciente puede no tener que esperar hasta que esté cerca de la muerte para recibir su nuevo órgano. Más bien, tiene la oportunidad de someterse a un trasplante y mejorar su calidad de vida (Horch, Pepescu, Vacanti & Maio, 2008).

Los constructos de tejido fetal de la ingeniería de tejidos tienen el potencial de ayudar a aliviar los síntomas, además de curar alrededor de veinte enfermedades crónicas, incluyendo la enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, la diabetes mellitus, las deficiencias de las enzimas y factores hepáticos, trastornos hematopoyéticos (talasemias, anemia falciforme, etc.). De hecho, el uso de tejidos neonatales en constructos de ingeniería de tejidos se ha convertido ya en un éxito y diversas compañías (Advanced Tissue Sciences, Organogenesis, LifeCell, y BioSurface Technology, entre otras) usan prepucios neonatales, una pieza que normalmente se desecha de las circuncisiones, para aislar fibroblastos utilizados para crear los injertos de piel bioartificiales (Oerlemans, van den Berg, van Leeuwen & Dekkers, 2011). La utilización de tejidos fetales ofrece varias ventajas sobre tejido de un adulto o incluso de un bebé. Los tejidos fetales demuestran una notable capacidad para crecer, dividirse y diferenciarse. Además, los tejidos fetales han demostrado tener la capacidad de soportar la hipoxia y también han disminuido los efectos inmunogénicos (Robertson, 1995).

Los tejidos fetales se derivan de los fetos abortados electivamente. Los fetos abortados espontáneamente y los embarazos ectópicos son indeseables debido a la alta incidencia de infección, anomalías genéticas/cromosómicas y tejido necrótico secundario a la anoxia (Garry, Capla, Vawter & Kearney, 1992). Las cuestiones éticas fundamentales en torno

al uso de tejido fetal corresponden a si su uso puede ser separado de la ley del aborto electivo. Los grupos de opinión de tendencias conservadoras reclaman que el aborto es tan inmoral que cualquier uso de los tejidos es inmoral también (Rojansky & Schenker, 1993)(J. Lee & Yap, 2003).

Las encuestas existentes realizadas a mujeres que habían recibido abortos, muestran que no había pruebas de que el bienestar de terceros jugara un papel en la elección de un aborto (Patrick et al., 1998). Sin embargo, desde que la investigación con tejido fetal y el trasplante han tenido tan amplias implicaciones sociales y políticas, y ya que las cuestiones morales son tan complejas, es imperativo que los principios éticos sean seguidos. En la investigación con tejido fetal los principios de autonomía y no maleficencia adquieren un significado especial. La autonomía debe ser considerada para dos individuos, no solo para la madre sino la del feto como ser viviente. El principio de no maleficencia puede encontrar definiciones contradictorias entre los médicos que participan en las investigaciones. La noción de aborto podría ser considerada por algunos médicos como intrínsecamente maléfica, mientras que otros médicos, ven el juramento de “no hacer daño” específicamente entre ellos y su paciente, la madre (Sanders & Raffin, 1994). Además, el principio de la beneficencia también podría desempeñar un papel en el debate ético. La ciencia ahora puede decir que algo “bueno” (trasplantes de tejido fetal) puede surgir de algo “desagradable” (aborto provocado).

Con el fin de evitar los problemas mencionados anteriormente, varios países y organizaciones han creado directrices para ser implementadas (Patrick et al., 1998). Una recopilación de algunas de estas pautas son las siguientes:

- El uso comercial o venta de estos tejidos está prohibido
- El receptor del tejido no puede ser conocido por el donante
- El tejido no es proporcionado en un intercambio financiero
- A los médicos que practican el aborto no se les permitirá beneficiarse de la utilización posterior del tejido fetal
- Debe haber una separación clara entre el aborto y el asesoramiento de obtención de tejidos fetales
- El demandante debe completar un formulario de consentimiento informado

Estas pautas pueden ayudar a asegurar que el uso posterior de los tejidos no influye en la decisión de una mujer de tener un aborto. Si se siguen estas pautas, el tejido fetal puede ser éticamente obtenido para la investigación. Por último, el impacto de la ingeniería de tejidos en la investigación fetal podría ser muy importante. Es concebible que, a través de la ingeniería de tejidos, la necesidad de tejido fetal recién cultivado finalmente se eliminaría a través de la producción de líneas celulares desarrolladas a partir de estas muestras.

El último objetivo de la ingeniería de tejidos es el de crear constructos de tejido que se puedan utilizar para restaurar, reparar o reemplazar tejidos dañados. Idealmente, utilizando una pequeña muestra de biopsia del paciente y técnicas de ingeniería de

tejidos *ex vivo*, un constructo de tejido se podría producir y serviría como un autoinjerto implantable. Si los ingenieros de tejidos quieren alcanzar este objetivo, la investigación debe continuar. Es probable que la atención pública y los debates sigan decreciendo según nuevos descubrimientos se produzcan. Mientras que es de esperarse que los debates éticos, legales y sociales del uso de tejidos en la investigación y aplicación en pacientes permanezcan.

1.9 Desafíos

La ingeniería de tejidos ha emergido como un campo interdisciplinario con un alto potencial en la medicina regenerativa. Combina la experiencia de las ciencias biológicas, ciencias físicas y de ingeniería para el desarrollo de tejidos funcionales que puedan mantener, restaurar o mejorar los órganos dañados (Battiston et al., 2014). En la mayoría de los casos, esta área intenta recapitular ciertos aspectos del desarrollo normal para estimular la organización y diferenciación celular dentro del tejido funcional. En las pasadas tres décadas se han logrado grandes progresos en la ingeniería de tejidos, incluyendo el desarrollo de andamios biodegradables, la combinación de células y biomateriales para la generación de constructos, el desarrollo de biorreactores diseñados para estimular los tejidos cultivados por medio de señales de desarrollo pertinentes, y el aislamiento y la caracterización de las células madre embrionarias y adultas. Estos avances han llevado a éxitos clínicos para tejidos simples como la piel y el cartílago. Sin embargo, a pesar de estos éxitos quedan aún claros desafíos (Braghirolli et al., 2014; Peek, 2015).

Los biomateriales han jugado un papel crucial en el desarrollo de los órganos para la ingeniería de tejidos. Los biomateriales degradables pueden ser usados para fabricar andamios y así situar células con estrecha proximidad la una con la otra. Los esfuerzos actuales se dirigen a optimizar las propiedades mecánicas, físicas, químicas y biológicas de los andamios para aplicaciones que requieren diferentes microambientes. Un ejemplo es el diseño de superficies que exhiban cambios dinámicos en las propiedades interfaciales, como la humectabilidad, en respuesta a un potencial eléctrico. Actualmente, se están diseñando materiales como polímeros inteligentes, polímeros degradables con elasticidad y polímeros con memoria de forma, todos con fines de mejorar el acople entre el biomaterial tejido (Cook et al., 2014; Robert Langer, 2009).

Otro desafío es generar tejidos vascularizados. La vascularización de tejidos se puede utilizar para iniciar o restablecer el flujo sanguíneo y, por tanto, cumplir el requisito universal para el establecimiento de perfusión de la sangre a través de tejidos diseñados con espesores clínicamente relevantes. Los métodos que muestran una gran promesa en el tratamiento de este problema incluyen la liberación controlada de factores angiogénicos en los andamios, cultivo de células endoteliales directamente en el andamio y el diseño del sistema vascular directamente en el tejido usando diversos métodos (e.g. microfabricación) (de la Puente et al., 2014; Robert Langer, 2007).

Hoy día, el desafío clave de la ingeniería de tejidos sigue siendo el crecimiento de tejidos gruesos sin una red capilar intrínseca que provea suplemento sanguíneo, lo cual limita el crecimiento de los tejidos a 100-200 μm debido al déficit de nutrientes, oxígeno y eliminación de desechos (Laschke et al., 2006; He et al., 2007; M Radisic et al., 2006). Por otra parte, la ingeniería de tejidos tiene otras barreras como los altos costos de tratamientos y de investigación, las regulaciones gubernamentales, los dilemas éticos y la aceptación por parte del personal médico especializado renuente a la adopción de terapias no convencionales (Griffith & Naughton, 2002; Radhakrishnan et al., 2014).

En el futuro, la ingeniería de tejidos puede reducir potencialmente la necesidad de donantes en reemplazo de órganos, así como facilitar el desarrollo de nuevos fármacos, proporcionando modelos basados en células humanas para la liberación de los mismos, los cuales eventualmente pueden eliminar la necesidad de trasplantes de órganos y mejorar en general la evolución de patología, daño o lesión (Hassan et al., 2014; Griffith & Naughton, 2002;).

Un reto importante en la ingeniería de tejidos es establecer la fuente celular adecuada. En los últimos años, el campo de las células madre se ha desarrollado considerablemente y presenta un gran potencial como fuente para generación de tejidos in vitro, usando células madres adultas o embrionarias. Se ha demostrado que las células endoteliales derivadas de células madre embrionarias humanas generan vasculatura funcional. Más recientemente el descubrimiento de las células madre pluripotenciales ha extendido el trabajo, y ahora es posible utilizar no sólo células madre, sino también células diferenciadas a las que se les otorga características parecidas a las de las células madre (Griffith & Naughton, 2002). Sin embargo, es aún necesario mucha más investigación para entender las claves y señales que regulan la diferenciación celular, que lleven a su uso en aplicaciones de ingeniería de tejidos.

En resumen, la comprensión de la biología actual asociada con la regeneración de tejidos es esencial para el desarrollo de enfoques biomiméticos que ayuden en el control de formación de tejido, función celular, diferenciación y angiogénesis utilizando los factores implicados en el normal desarrollo y función de un tejido.

Referencias

- Agarwal, S., Holton, K. L. & Lanza, R. (2008). Efficient differentiation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 26(5), 1117–27. <http://doi.org/10.1634/stemcells.2007-1102>
- Agrawal, C. M. & Ray, R. B. (2001). Biodegradable polymeric scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, 55(2), 141–50.
- Ahmad, S., Stewart, R., Yung, S., Kolli, S., Armstrong, L., Stojkovic, M., ... Lako, M. (2007). Differentiation of human embryonic stem cells into corneal epithelial-like cells by in vitro replication of the corneal epithelial stem cell niche. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 25(5), 1145–55. <http://doi.org/10.1634/stemcells.2006-0516>
- Altobelli, D. E., Yaszemski, M. J., Wise, D. L., Trantolo, D. J., Gresser, J. D. & Lewandrowski, K.-U. (2002). *Tissue Engineering and Biodegradable Equivalents*.
- Anderson, J. R., Fear, M. W., Phillips, J. K., Dawson, L. F., Wallace, H., Wood, F. M. & Rea, S. M. (2011). A preliminary investigation of the reinnervation and return of sensory function in burn patients treated with INTEGRA®. *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries*, 37(7), 1101–8. <http://doi.org/10.1016/j.burns.2011.04.002>
- Andreadis, S. T. & Geer, D. J. (2006). Biomimetic approaches to protein and gene delivery for tissue regeneration. *Trends in Biotechnology*, 24(7), 331–7. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.05.001>
- Archibald, S. J., Krarup, C., Shefner, J., Li, S. T. & Madison, R. D. (1991). A collagen-based nerve guide conduit for peripheral nerve repair: an electrophysiological study of nerve regeneration in rodents and nonhuman primates. *The Journal of Comparative Neurology*, 306(4), 685–96. <http://doi.org/10.1002/cne.903060410>
- Arias, J., Aller, A. M., Fernandez, E., Ignacio, J. & Lorente, L. (2004). *Propedéutica quirúrgica: preoperatorio, operatorio, postoperatorio*. Editorial Tebar.
- Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S. & Kenny, J. M. (2010). Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review. *Polymer Degradation and Stability*, 95(11), 2126–2146. <http://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.007>
- 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.
- Askeland, D. (1998). *Ciencia e Ingeniería de los Materiales*. (I. T. Editores, Ed.) (Tercera ed).
- Atala, A., Bauer, S. B., Soker, S., Yoo, J. J. & Retik, A. B. (2006). Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet*, 367(9518), 1241–6. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68438-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68438-9)
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.burns.2006.11.002>
- Ballyns, J. J., Cohen, D. L., Malone, E., Maher, S. A., Potter, H. G., Wright, T., ... Bonassar, L. J. (2010). An optical method for evaluation of geometric fidelity for anatomically shaped tissue-enginee-

- red constructs. *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 16(4), 693–703. <http://doi.org/10.1089/ten.TEC.2009.0441>
- Barras, F. M., Pasche, P., Bouche, N., Aebischer, P. & Zurn, A. D. (2002). Glial cell line-derived neurotrophic factor released by synthetic guidance channels promotes facial nerve regeneration in the rat. *Journal of Neuroscience Research*, 70(6), 746–55. <http://doi.org/10.1002/jnr.10434>
- Barsotti, M. C., Felice, F., Balbarini, A. & Di Stefano, R. (2011). Fibrin as a scaffold for cardiac tissue engineering. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 58(5), 301–10. <http://doi.org/10.1002/bab.49>
- Battiston, K. G., Cheung, J. W. C., Jain, D. & Santerre, J. P. (2014). Biomaterials in co-culture systems: towards optimizing tissue integration and cell signaling within scaffolds. *Biomaterials*, 35(15), 4465–76. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.02.023>
- Bell, E. (2000). *Tissue engineering in perspective. Principles of Tissue Engineering*. Academic Press, NY.
- Bell, E., Ehrlich, H. P., Buttle, D. J. & Nakatsuji, T. (1981). Living tissue formed in vitro and accepted as skin-equivalent tissue of full thickness. *Science (New York, N.Y.)*, 211(4486), 1052–4.
- Bell, E., Parenteau, N., Gay, R., Nolte, C., Kemp, P., Bilbo, P., ... Johnson, E. (1991). The living skin equivalent: Its manufacture, its organotypic properties and its responses to irritants. *Toxicology in Vitro : An International Journal Published in Association with BIBRA*, 5(5-6), 591–6.
- Bellamkonda, R., & Aebischer, P. (1994). Review: Tissue engineering in the nervous system. *Biotechnology and Bioengineering*, 43(7), 543–554. <http://doi.org/10.1002/bit.260430703>
- Bertipaglia, B., Ortolani, F., Petrelli, L., Gerosa, G., Spina, M., Pauletto, P., ... Sartore, S. (2003). Cell characterization of porcine aortic valve and decellularized leaflets repopulated with aortic valve interstitial cells: the VESALIO Project (Vitalitate Exornatum Succedaneum Aorticum Labore Ingenioso Obtenibitur). *The Annals of Thoracic Surgery*, 75(4), 1274 – 82.
- Bettuzzi, S. (2009). Biomaterials. *Advances in cancer research*, 104. [http://doi.org/10.1016/S0065-230X\(09\)04001-9](http://doi.org/10.1016/S0065-230X(09)04001-9)
- Bhardwaj, N. & Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28(3), 325–47. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004>
- Bi, L., Rahaman, M. N., Day, D. E., Brown, Z., Samujh, C., Liu, X., ... Bonewald, L. F. (2013). Effect of bioactive borate glass microstructure on bone regeneration, angiogenesis, and hydroxyapatite conversion in a rat calvarial defect model. *Acta Biomaterialia*, 9(8), 8015–26. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.043>
- Bilodeau, K. & Mantovani, D. (2006). Bioreactors for tissue engineering: focus on mechanical constraints. A comparative review. *Tissue Engineering*, 12(8), 2367–83. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2367>
- Bisbee, C. A. (1994). Bioethics and law issues stand at the genetic frontier of biotechnology. *Genetic Engineering News*, 28.
- Black, J. (2006). *Biological performance of materials: fundamentals of biocompatibility*. Boca Raton (Florida): CRC Press.
- Blomme, E. A., Werkmeister, J. R., Zhou, H., Kartsogiannis, V., Capen, C. C. & Rosol, T. J. (1998). Parathyroid hormone-related protein expression and secretion in a skin organotypic culture system. *Endocrine*, 8(2), 143–51. <http://doi.org/10.1385/ENDO:8:2:143>
- Bloom, D. A., Clayman, R. V. & McDougal, E. (1999). Stents and related terms: a brief history. *Urology*, (54), 767.

- Boccaccini, A. R. & Gough, J. E. (2007). *Tissue engineering using ceramics and polymers* (First Edit). Boca Raton (Florida): Woodhead Publishing Limited.
- Boccaccini, A. R. & Hardin, S. E. (2011). *Myocardial Tissue Engineering*. Springer.
- Boilet, L., Descamps, M., Rguiti, E., Tricoteaux, A., Lu, J., Petit, F., ... Leriche, A. (2013). Processing and properties of transparent hydroxyapatite and β tricalcium phosphate obtained by HIP process. *Ceramics International*, 39(1), 283–288.
- Borenstein, J. T., Terai, H., King, K. R., Weinberg, E. J., Kaazempur-Mofrad, M. R. & Vacanti, J. P. (2002). Microfabrication Technology for Vascularized Tissue Engineering. *Biomedical Micro-devices*, 4(3), 167–175.
- Bosworth, L. & Downes, S. (2011). *Electrospinning for Tissue Regeneration*. Woodhead Publishing.
- Bouten, C. & Dankers, P. (2011). Substrates for cardiovascular tissue engineering. *Advanced Drug Delivery ...*, 63(4-5), 221–41. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.007>
- Bouten, C. V. C., Dankers, P. Y. W., Driessen-Mol, A., Pedron, S., Brizard, A. M. A. & Baaijens, F. P. T. (2011). Substrates for cardiovascular tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(4-5), 221–41. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.007>
- Boyce, S. T. & Hansbrough, J. F. (1988). Biologic attachment, growth, and differentiation of cultured human epidermal keratinocytes on a graftable collagen and chondroitin-6-sulfate substrate. *Surgery*, 103(4), 421–31.
- Boyce, S. T., Glatter, R. and Kitsmiller, J. (1995). *Treatment of chronic wounds with cultured skin substitutes: a pilot study*. Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice.
- Braghirolli, D. I., Steffens, D. & Pranke, P. (2014). *Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics*. Drug Discovery Today. <http://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.03.024>
- Brem, H., Kirsner, R. S. & Falanga, V. (2004). Protocol for the successful treatment of venous ulcers. *The American Journal of Surgery*, 188(1), 1–8.
- Brouard, M. & Barrandon, Y. (2003). Controlling skin morphogenesis: hope and despair. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(5), 520–5.
- Bryan, N., Ahswin, H., Smart, N., Bayon, Y., Wohlert, S. & Hunt, J. a. (2013). The in vivo evaluation of tissue-based biomaterials in a rat full-thickness abdominal wall defect model. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 1–12. <http://doi.org/10.1002/jb-m.b.33050>
- Bünger, H. C. (1823). Gelungener Versuch einer Nasenbildung aus einem völligen getrennten Hautstück aus dem Beine. *Journal Der Chirurgie Und Augenheilkunde*, 4, 569.
- Butcher, J., Mahler, G. & Hockaday, L. (2011). Aortic valve disease and treatment: the need for naturally engineered solutions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(4-5), 242–68. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2011.01.008>
- Byrne, D. P., Lacroix, D., Planell, J. A., Kelly, D. J. & Prendergast, P. J. (2007). Simulation of tissue differentiation in a scaffold as a function of porosity, Young's modulus and dissolution rate: application of mechanobiological models in tissue engineering. *Biomaterials*, 28(36), 5544–54. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.09.003>
- Camci-Unal, G., Aubin, H., Ahari, A. F., Bae, H., Nichol, J. W. & Khademhosseini, A. (2010). Surface-modified hyaluronic acid hydrogels to capture endothelial progenitor cells. *Soft Matter*, 6(20), 5120–5126. <http://doi.org/10.1039/c0sm00508h>

- Cao, H., Liu, T. & Chew, S. Y. (2009). The application of nanofibrous scaffolds in neural tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(12), 1055–64. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.009>
- Caplan, A. I. (2000). Tissue engineering designs for the future: new logics, old molecules. *Tissue Engineering*, 6(1), 1–8. <http://doi.org/10.1089/107632700320838>
- Caravaggi, C., De Giglio, R., Pritelli, C., Sommara, M., Dalla Noce, S., Faglia, E., ... Morabito, A. (2003). HYAFF 11-Based Autologous Dermal and Epidermal Grafts in the Treatment of Noninfected Diabetic Plantar and Dorsal Foot Ulcers: A prospective, multicenter, controlled, randomized clinical trial. *Diabetes Care*, 26(10), 2853–2859. <http://doi.org/10.2337/diacare.26.10.2853>
- Carrel, A. (1902). *La technique opératoire des anastomoses vasculaire et la transplantation des vis-cères*. Lyon Med, 98, 85.
- Carrel, A. & Burrows, M. T. (1911). Cultivation of tissues in vitro and its technique. *J Exp Med*, 13, 387–398.
- Carrier, R. L., Rupnick, M., Langer, R., Schoen, F. J., Freed, L. E. & Vunjak-Novakovic, G. (2002). Perfusion improves tissue architecture of engineered cardiac muscle. *Tissue Engineering*, 8(2), 175–88. <http://doi.org/10.1089/107632702753724950>
- Carsin, H., Ainaud, P., Le Bever, H., Rives, J., Lakhel, A., Stephanazzi, J., ... Perrot, J. (2000). Cultured epithelial autografts in extensive burn coverage of severely traumatized patients: a five year single-center experience with 30 patients. *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries*, 26(4), 379–87.
- Caruso, D. M., Schuh, W. H., Al-Kasspooles, M. F., Chen, M. C. & Schiller, W. R. (1999). Cultured composite autografts as coverage for an extensive body surface area burn: case report and review of the technology. *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries*, 25(8), 771–9.
- Caspi, O., Huber, I., Kehat, I., Habib, M., Arbel, G., Gepstein, A., ... Gepstein, L. (2007). Transplantation of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes improves myocardial performance in infarcted rat hearts. *Journal of the American College of Cardiology*, 50(19), 1884–93. <http://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.07.054>
- Catalao, F. T. A. (2013). *Modification of Natural-based Polymers for Biomedical Applications*.
- Catena, F., Ansaloni, L., Gazzotti, F., Gagliardi, S., Di Saverio, S., D'Alessandro, L. & Pinna, A. D. (2007). Use of porcine dermal collagen graft (Permacol) for hernia repair in contaminated fields. *Hernia : The Journal of Hernias and Abdominal Wall Surgery*, 11(1), 57–60. <http://doi.org/10.1007/s10029-006-0171-6>
- Cebotari, S., Lichtenberg, A., Tudorache, I., Hilfiker, A., Mertsching, H., Leyh, R., ... Haverich, A. (2006). Clinical application of tissue engineered human heart valves using autologous progenitor cells. *Circulation*, 114(1 Suppl), I132–7. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.001065>
- Chan, B. P. & Leong, K. W. (2008). Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European Spine Journal : Official Publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*, 17 Suppl 4, 467–79. <http://doi.org/10.1007/s00586-008-0745-3>

- Chen, B.-H., Chen, K.-I., Ho, M.-L., Chen, H.-N., Chen, W.-C. & Wang, C.-K. (2009). Synthesis of calcium phosphates and porous hydroxyapatite beads prepared by emulsion method. *Materials Chemistry and Physics*, 113(1), 365–371.
- Chen, C. S., Alonso, J. L., Ostuni, E., Whitesides, G. M. & Ingber, D. E. (2003). Cell shape provides global control of focal adhesion assembly. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307(2), 355–61.
- Chen, C. S., Mrksich, M., Huang, S., Whitesides, G. M. & Ingber, D. E. (1997). Geometric control of cell life and death. *Science (New York, N.Y.)*, 276(5317), 1425–8.
- Chen, C. S., Tan, J. & Tien, J. (2004). Mechanotransduction at cell-matrix and cell-cell contacts. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 6, 275–302. <http://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140040>
- Chen, H. & Hu, Y. (2006). *Bioreactors for tissue engineering*. *Biotechnology Letters*, 28(18), 1415–23. <http://doi.org/10.1007/s10529-006-9111-x>
- Chen, Q., Liang, S. & Thouas, G. A. (2013). Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*, 38(3-4), 584–671. <http://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003>
- Chen, Q., Zhu, C. & Thouas, G. A. (2012). Progress and challenges in biomaterials used for bone tissue engineering: bioactive glasses and elastomeric composites. *Progress in Biomaterials*, 1(1), 2. <http://doi.org/10.1186/2194-0517-1-2>
- Chen, Q.-Z., Harding, S. E., Ali, N. N., Lyon, A. R., & Boccaccini, A. R. (2008). Biomaterials in cardiac tissue engineering: Ten years of research survey. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 59(1-6), 1–37. <http://doi.org/10.1016/j.mser.2007.08.001>
- Chen, R., Qiu, L., Ke, Q., He, C. & Mo, X. (2009). Electrospinning thermoplastic polyurethane-contained collagen nanofibers for tissue-engineering applications. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 20(11), 1513–1536. Retrieved from <http://www.mendeley.com/catalog/electrospinning-thermoplastic-polyurethane-contained-collagen-nanofibers-tissue-engineering-applicat/>
- Chen, W. & Wah Tong, Y. (2012). *PHBV microspheres as neural tissue engineering scaffold support neuronal cell growth and axon-dendrite polarization*.
- Cheung, H. Y., Lau, K. T., Lu, T. P. & Hui, D. (2007). A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development. *Composites Part B: Engineering*, 38, 291–300.
- Childress, J. F. (1989). The normative principles of medical ethics. In *Medical Ethics* (pp. 27–48). Boston: Jones and Barlett.
- Chiu, L. L., & Radisic, M. (2013). Cardiac tissue engineering. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 2(1), 41–52. <http://doi.org/10.1016/j.coche.2013.01.002>
- Chiu, L. L. Y., Chu, Z., & Radisic, M. (2011). *Tissue Engineering*.
- Choi, D., Hwang, K.-C., Lee, K.-Y. & Kim, Y.-H. (2009). Ischemic heart diseases: current treatments and future. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 140(3), 194–202. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.06.016>
- Chong, E. J., Phan, T. T., Lim, I. J., Zhang, Y. Z., Bay, B. H., Ramakrishna, S. & Lim, C. T. (2007). Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution. *Acta Biomaterialia*, 3(3), 321–30. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.01.002>
- Chu, P. K. (2007). Enhancement of surface properties of biomaterials using plasma-based tech-

- nologies. *Surface and Coatings Technology*, 201(19-20), 8076–8082. <http://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2005.12.053>
- Chu, T. M. G., Orton, D. G., Hollister, S. J., Feinberg, S. E. & Halloran, J. W. (2002). Mechanical and in vivo performance of hydroxyapatite implants with controlled architectures. *Biomaterials*, 23(5), 1283–93.
- Chun, H. J., Kim, G.-W., & Kim, C.-H. (2008). Fabrication of porous chitosan scaffold in order to improve biocompatibility. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 69(5-6), 1573–1576. <http://doi.org/10.1016/j.jpics.2007.10.104>
- Chung, T.-W., Lu, Y.-F., Wang, S.-S., Lin, Y.-S. & Chu, S.-H. (2002). Growth of human endothelial cells on photochemically grafted Gly–Arg–Gly–Asp (GRGD) chitosans. *Biomaterials*, 23(24), 4803–4809. [http://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00231-4](http://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00231-4)
- Clark, R. A. F., Ghosh, K. & Tonnesen, M. G. (2007). Tissue engineering for cutaneous wounds. *The Journal of Investigative Dermatology*, 127(5), 1018–29. <http://doi.org/10.1038/sj.jid.5700715>
- Clark, R. A. F. & Singer, A. J. (2000). *Wound Repair: Basic Biology to Tissue Engineering*. In Principles of Tissue Engineering (pp. 857–878).
- Cohn, D. & Salomon, A. H. (2005). Designing biodegradable multiblock PCL/PLA thermoplastic elastomers. *Biomaterials*, 26(15), 2297–305. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.07.052>
- Concar, D. (1994). The organ factory of the future. *New Scientist*, 142(1930), 24–29.
- Cook, E. a, Cook, J. J., Badri, H. & Mostafa, J. (2014). Bioengineered alternative tissues. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*, 31(1), 89–101. <http://doi.org/10.1016/j.cpm.2013.09.010>
- Coulomb, B., Friteau, L., Baruch, J., Guilbaud, J., Chretien-Marquet, B., Glicenstein, J., ... Dubertret, L. (1998). Advantage of the presence of living dermal fibroblasts within in vitro reconstructed skin for grafting in humans. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 101(7), 1891–903.
- Cregg, J. M., Wiseman, S. L., Pietrzak-Goetze, N. M., Smith, M. R., Jaroch, D. B., Clupper, D. C. & Gilbert, R. J. (2010). A rapid, quantitative method for assessing axonal extension on biomaterial platforms. *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 16(2), 167–72. <http://doi.org/10.1089/ten.TEC.2009.0108>
- Dahlin, R. L., Kasper, F. K. & Mikos, A. G. (2011). Polymeric nanofibers in tissue engineering. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 17(5), 349–64. <http://doi.org/10.1089/ten.TEB.2011.0238>
- de la Puente, P. & Ludeña, D. (2014). Cell culture in autologous fibrin scaffolds for applications in tissue engineering. *Experimental Cell Research*, 322(1), 1–11. <http://doi.org/10.1016/j.yexcr.2013.12.017>
- Deng, C., Zhang, P., Vulesevic, B., Kuraitis, D., Li, F., Yang, A. F., ... Suuronen, E. J. (2010). A collagen–chitosan hydrogel for endothelial differentiation and angiogenesis. *Tissue Engineering. Part A*, 16(10), 3099–109. <http://doi.org/10.1089/ten.tea.2009.0504>
- Dennis, R., Kirberger, R. M., Barr, F. & Wrigley, R. H. (2010). *Skeletal system*. In *Handbook of Small Animal Radiology and Ultrasound* (pp. 1–37).
- Desmoulière & Gabbiani (1996). *The role of the myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases*. The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair, 2nd edn.
- Dieffenbach, J. F. (1822). *Nonnulla de regeneratione et transplantatione*. Richter.
- Dillner, L. (1996). Pig organs approved for human transplants. *British Medical Journal*, 312(7032), 657.
- Ditzel, M., Deerenberg, E. B., Grotenhuis, N., Harlaar, J. J., Monkhorst, K., Bastiaansen-Jenniskens, Y. M., ... Lange, J. F. (2013). Biologic meshes are not superior to synthetic meshes in ventral

- hernia repair: an experimental study with long-term follow-up evaluation. *Surgical Endoscopy*, 27(10), 3654–62. <http://doi.org/10.1007/s00464-013-2939-y>
- Dive medical. (2013). *Qué son los Stent Coronarios?*
- Donndorf, P., Strauer, B.-E., Haverich, A. & Steinhoff, G. (2013). Stem cell therapy for the treatment of acute myocardial infarction and chronic ischemic heart disease. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 14(1), 12–9.
- Doppler, S. A., Deutsch, M.-A., Lange, R. & Krane, M. (2013). Cardiac regeneration: current therapies-future concepts. *Journal of Thoracic Disease*, 5(5), 683–97. <http://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.71>
- Duerstock, B. S. & Borgens, R. B. (2002). Three-dimensional morphometry of spinal cord injury following polyethylene glycol treatment. *The Journal of Experimental Biology*, 205(Pt 1), 13–24.
- During, M. J., Freese, A., Sabel, B. A., Saltzman, W. M., Deutch, A., Roth, R. H. & Langer, R. (1989). Controlled release of dopamine from a polymeric brain implant: in vivo characterization. *Annals of Neurology*, 25(4), 351–6. <http://doi.org/10.1002/ana.410250406>
- Dvir, T., Benishti, N., Shachar, M. & Cohen, S. (2006). A novel perfusion bioreactor providing a homogenous milieu for tissue regeneration. *Tissue Engineering*, 12(10), 2843–52. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2843>
- Eaglstein, W. H. & Falanga, V. (1998). Tissue engineering for skin: an update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 39(6), 1007–10.
- Edge, A. (1998). Xenogeneic cell therapy: current progress and future developments in porcine cell transplantation. *Cell Transplantation*, 7(6), 525–539. [http://doi.org/10.1016/S0963-6897\(98\)00043-8](http://doi.org/10.1016/S0963-6897(98)00043-8)
- El-Amin, S. F., Lu, H. H., Khan, Y., Burems, J., Mitchell, J., Tuan, R. S. & Laurencin, C. T. (2003). Extracellular matrix production by human osteoblasts cultured on biodegradable polymers applicable for tissue engineering. *Biomaterials*, 24(7), 1213–1221.
- Elbert, D. L. & Hubbell, J. A. (2001). Conjugate addition reactions combined with free-radical cross-linking for the design of materials for tissue engineering. *Biomacromolecules*, 2(2), 430–41.
- Elias, P. Z. & Spector, M. (2012). Implantation of a collagen scaffold seeded with adult rat hippocampal progenitors in a rat model of penetrating brain injury. *Journal of Neuroscience Methods*, 209(1), 199–211. <http://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2012.06.003>
- Elmengaard, B., Bechtold, J. E. & Søballe, K. (2005). In vivo study of the effect of RGD treatment on bone ongrowth on press-fit titanium alloy implants. *Biomaterials*, 26(17), 3521–6. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.039>
- Emmert, M. Y., Hitchcock, R. W. & Hoerstrup, S. P. (2013). *Cell therapy, 3D culture systems and tissue engineering for cardiac regeneration*. Advanced Drug Delivery Reviews. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2013.12.004>
- Enderle, J. D., Blanchard, S. M. & Bronzino, J. D. (2005). *Introduction to biomedical engineering* (2nd ed). San Diego (California): Elsevier.
- Enrique, J., Saínez, M., José, I. J., Socías, P. & Irmina, I. I. A. (2011). Uso de malla de polipropileno en la hernioplastia por técnica de Lichtenstein Use of polypropylene mesh in hernioplasty by Lichtenstein 's technique. *Revista Cubana de Cirugía*, 50(2), 147–154.

- Erkizia, G., Rainer, a, De Juan-Pardo, E. M. & Aldazabal, J. (2010). Computer Simulation of Scaffold Degradation. *Journal of Physics: Conference Series*, 252, 012004. <http://doi.org/10.1088/1742-6596/252/1/012004>
- Eschenhagen, T., Didié, M. & Heubach, J. (2002). Cardiac tissue engineering. *Transplant ...*, 70(3), 541–556.
- Escuela de Medicina Universidad Católica de Chile. (2001). *Células de sostén*.
- Especialistas internacionais conhecem monitoramento brasileiro de implantes ortopédicos. (n.d.). Retrieved May 4, 2014, from <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/anvisa+portal/anvisa/sala+de+imprensa/assunto+de+interesse/noticias/especialistas+internacionais+conhecem+monitoramento+brasileiro+de+implantes+ortopedicos>
- Ethier, C. R. & Simmons, C. A. (2007). *Introductory Biomechanics. From cells to organisms*. New York: Cambridge University Press.
- Falanga, V. & Faria, K. (2007). *Bioengineered Skin Constructs*. In *Principles of tissue engineering* (pp. 1167– 1185).
- Fawcett, J. W. & Asher, R. a. (1999). The glial scar and central nervous system repair. *Brain Research Bulletin*, 49(6), 377–91.
- Fell, H. B. (1972). Tissue culture and it's contribution to biology and medicine. *J Exp Biol*, 57, 1–13.
- Fenexy. (2012). *Investigación en lesiones medulares*.
- Ferraz, M. P., Monteiro, F. J. & Manuel, C. M. (2004). Hydroxyapatite nanoparticles : A review of. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics*, 2, 74–80.
- Fine, E. G., Decosterd, I., Papaloizos, M., Zurn, A. D. & Aebischer, P. (2002). GDNF and NGF released by synthetic guidance channels support sciatic nerve regeneration across a long gap. *The European Journal of Neuroscience*, 15(4), 589–601.
- Fini, M., Giavaresi, G., Torricelli, P., Borsari, V., Giardino, R., Nicolini, A. & Carpi, A. (2004). Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58(9), 487–493.
- Fink, J. S., Schumacher, J. M., Ellias, S. L., Palmer, E. P., Saint-Hilaire, M., Shannon, K., ... Isacson, O. (2000). Porcine xenografts in Parkinson's disease and Huntington's disease patients: preliminary results. *Cell Transplantation*, 9(2), 273–8.
- Flanagan, T. C., Sachweh, J. S., Frese, J., Schnöring, H., Gronloh, N., Koch, S., ... Jockenhoevel, S. (2009). In vivo remodeling and structural characterization of fibrin-based tissue-engineered heart valves in the adult sheep model. *Tissue Engineering. Part A*, 15(10), 2965–76. <http://doi.org/10.1089/ten.TEA.2009.0018>
- Flynn, L., Dalton, P. D. & Shoichet, M. S. (2003). Fiber templating of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) for neural tissue engineering. *Biomaterials*, 24(23), 4265–72.
- Foley, E., Robinson, A. & Maloney, M. (2013). Skin Substitutes and Dermatology: A Review. *Current Dermatology Reports*, 2(2), 101–112. <http://doi.org/10.1007/s13671-013-0044-z>
- Fore-Pfliger, J. (2004). The epidermal skin barrier: implications for the wound care practitioner, part I. *Advances in Skin & Wound Care*, 17(9), 480–8.
- Franco, D., Moreno, N. & Ruiz-Lozano, P. (2007). Non-resident stem cell populations in regenerative cardiac medicine. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 64(6), 683–91. <http://doi.org/10.1007/s00018-007-6521-4>
- Freed, L. E., Guilak, F., Guo, X. E., Gray, M. L., Tranquillo, R., Holmes, J. W., ... Vunjak-Novakovic, G.

- (2006). Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. *Tissue Engineering*, 12(12), 3285–305. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.3285>
- Freier, T. (2008). *Chitosan in Tissue Engineering Applications*.
- Freshney, R. I., Obradovic, B., Grayson, W., Cannizzaro, C. & Vunjak-Novakovic, G. (2007). *Principles of Tissue Culture and Bioreactor Design*. In R. Lanza, R. Langer, & J. Vacanti (Eds.), *Principles of Tissue Engineering* (3rd ed.). Elsevier.
- Fu, X., Jenkins, M. J., Sun, G., Bertoti, I. & Dong, H. (2012). Characterization of active screen plasma modified polyurethane surfaces. *Surface and Coatings Technology*, 206(23), 4799–4807.
- Fukui, K., Kaneuji, A., Sugimori, T., Ichiseki, T., Kitamura, K. & Matsumoto, T. (2011). Wear comparison between a highly cross-linked polyethylene and conventional polyethylene against a zirconia femoral head: minimum 5-year follow-up. *J. Arthroplasty*, 26, 45–49.
- Furnish, E. & Schmidt, C. (1998). *Tissue Engineering of the Peripheral Nervous System*.
- Galassi, G., Brun, P., Radice, M., Cortivo, R., Zanon, G. F., Genovese, P. & Abatangelo, G. (2000). In vitro reconstructed dermis implanted in human wounds: degradation studies of the HA-based supporting scaffold. *Biomaterials*, 21(21), 2183–91.
- Gansel, J. K., Thiel, M., Rill, M. S., Decker, M., Bade, K., Saile, V., ... Wegener, M. (2009). Gold helix photonic metamaterial as broadband circular polarizer. *Science (New York, N.Y.)*, 325(5947), 1513–5. <http://doi.org/10.1126/science.1177031>
- Gantz, B. J. (1987). Cochlear implants: An overview. *Acta Otolaryng. Head Neck Surg.*, (1), 171.
- Gao, C., Yang, B., Hu, H., Liu, J., Shuai, C. & Peng, S. (2013). Enhanced sintering ability of biphasic calcium phosphate by polymers used for bone scaffold fabrication. *Materials Science and Engineering: C*, 33(7), 3802–3810.
- Gao, Y., Liu, L.-J., Blatnik, J. a, Krpata, D. M., Anderson, J. M., Criss, C. N., ... Novitsky, Y. W. (2013). Methodology of fibroblast and mesenchymal stem cell coating of surgical meshes: A pilot analysis. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 1–9. <http://doi.org/10.1002/jbm.b.33061>
- Garry, D. J., Capla, A. L., Vawter, D. E. & Kearney, W. (1992). Are there really alternatives to the use of fetal tissue from elective abortions in transplantation research? *New England Journal of Medicine*, 327(22), 1592–1595.
- Generalized Hooke's Law (1981). *In Studies in Applied Mechanics* (pp. 41–55). <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-99754-8.50008-4>
- Gerecht-Nir, S., Cohen, S. & Itskovitz-Eldor, J. (2004). Bioreactor cultivation enhances the efficiency of human embryoid body (hEB) formation and differentiation. *Biotechnology and Bioengineering*, 86(5), 493–502. <http://doi.org/10.1002/bit.20045>
- Gholipour-Kanani, A., Bahrami, S. H., Samadi-Kochaksaraie, A., Ahmadi-Tafti, H., Rabbani, S., Kororian, A. & Erfani, E. (2012). Effect of tissue-engineered chitosan-poly(vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds on healing of burn wounds of rat skin. *IET Nanobiotechnology / IET*, 6(4), 129–35. <http://doi.org/10.1049/iet-nbt.2011.0070>
- Gomes, M., Azevedo, H., Malafaya, P., Silva, S. & Oliveira, J. (2008). *Natural Polymers in Tissue Engineering Applications*. *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics*, 385–425. <http://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2834-3.00016-1>
- Gómez Nicola, D. & Nieto Sampedro, M. (2008). *Glía reactiva. Mente y Cerebro*. Prensa Científica.

- Goodman, S. B., Yao, Z., Keeney, M. & Yang, F. (2013). The future of biologic coatings for orthopaedic implants. *Biomaterials*, 34(13), 3174–83. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.074>
- 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. <http://doi.org/10.1054/bjps.2002.3810>
- Gravante, G., Delogu, D., Giordan, N., Morano, G., Montone, A. & Esposito, G. (2007). The use of Hyalomatrix PA in the treatment of deep partial-thickness burns. *Journal of Burn Care & Research: Official Publication of the American Burn Association*, 28(2), 269–74. <http://doi.org/10.1097/BCR.0B013E318031A236>
- Griffith, L. G. & Naughton, G. (2002). Tissue engineering--current challenges and expanding opportunities. *Science (New York, N.Y.)*, 295(5557), 1009–14. <http://doi.org/10.1126/science.1069210>
- Grinnell, F. (2003). Fibroblast biology in three-dimensional collagen matrices. *Trends in Cell Biology*, 13(5), 264–9.
- Groeber, F., Holeiter, M., Hampel, M., Hinderer, S. & Schenke-Layland, K. (2011). Skin tissue engineering — In vivo and in vitro applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(4), 352–366.
- Gross, K. A., & Rodríguez-Lorenzo, L. M. (2004). Biodegradable composite scaffolds with an interconnected spherical network for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 25(20), 4955–4962.
- Groth, C. (1994). Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients. *The Lancet*, 344(8934), 1402–1404. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)90570-3](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)90570-3)
- Grupo de Experimentación Innovativa e Instrumental – FCEIA - UNR. (2012). *Producción de plásticos biodegradables a partir de aguas residuales*.
- Gunn, J. & Zhang, M. (2010). Polyblend nanofibers for biomedical applications: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 28(4), 189–97. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.12.006>
- Guo, J., Leung, K. K. G., Su, H., Yuan, Q., Wang, L., Chu, T.-H., ... Wu, W. (2009). Self-assembling peptide nanofiber scaffold promotes the reconstruction of acutely injured brain. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 5(3), 345–51. <http://doi.org/10.1016/j.nano.2008.12.001>
- Hake, U., Gabbert, H., Iversen, S., Jakob, H., Schmiedt, W. & Oelert, H. (1991). Evaluation of the healing of precoated vascular dacron prostheses. *Langenbecks Archiv Für Chirurgie*, 376(6), 323–9.
- Hansbrough, J. F., Doré, C. & Hansbrough, W. B. (1992). Clinical trials of a living dermal tissue replacement placed beneath meshed, split-thickness skin grafts on excised burn wounds. *The Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 13(5), 519–29.
- Harris, L. D., Kim, B. S. & Mooney, D. J. (1998). Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming. *Journal of Biomedical Materials Research*, 42(3), 396–402.
- Harrison, B. S. & Atala, A. (2007). Carbon nanotube applications for tissue engineering. *Biomaterials*, 28(2), 344–53. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.07.044>
- Harrison, R. G. (1907). Observations on the living developing nerve fiber. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 4, 140–143.
- Harrison, R. G. (1910). The outgrowth of the nerve fiber as a mode of protoplasmic extension. *J Exp Zool*, 9, 787.

- Hasan, A., Memic, A., Annabi, N., Hossain, M., Paul, A., Dokmeci, M. R., ... Khademhosseini, A. (2014). Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomaterialia*, 10(1), 11–25. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.08.022>
- Hasnain, M. S., Nayak, A. K., Ahmad, F. & Singh, R. K. (2010). Emerging Trends of Natural-Based Polymeric Systems for Drug Delivery in Tissue Engineering Applications. *Science Journal Ubu*, 1(2), 1–13.
- He, J. K., Li, D. C., Liu, Y. X., Yao, B., Lu, B. H. & Lian, Q. (2007). Fabrication and characterization of chitosan/gelatin porous scaffolds with predefined internal microstructures. *Polymer*, 48, 4578–4588.
- Heijkants, R. G. J. C., van Calck, R. V, van Tienen, T. G., de Groot, J. H., Pennings, A. J., Buma, P., ... Schouten, A. J. (2008). Polyurethane scaffold formation via a combination of salt leaching and thermally induced phase separation. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 87(4), 921–32. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.31829>
- Heimbach, D., Luterman, A., Burke, J., Cram, A., Herndon, D., Hunt, J., ... Warden, G. (1988). Artificial dermis for major burns. A multi-center randomized clinical trial. *Annals of Surgery*, 208(3), 313–20.
- Hernon, C. A., Dawson, R. A., Freedlander, E., Short, R., Haddow, D. B., Brotherston, M. & MacNeil, S. (2006). Clinical experience using cultured epithelial autografts leads to an alternative methodology for transferring skin cells from the laboratory to the patient. *Regenerative Medicine*, 1(6), 809–21. <http://doi.org/10.2217/17460751.1.6.809>
- Hidalgo-Bastida, L. A., Barry, J. J. A., Everitt, N. M., Rose, F. R. A. J., BATTERY, L. D., Hall, I. P., ... Shakesheff, K. M. (2007). Cell adhesion and mechanical properties of a flexible scaffold for cardiac tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 3(4), 457–62. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2006.12.006>
- Hirt-Burri, N., Scaletta, C., Gerber, S., Pioletti, D. P. & Applegate, L. A. (2008). Wound-healing gene family expression differences between fetal and foreskin cells used for bioengineered skin substitutes. *Artificial Organs*, 32(7), 509–18. <http://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2008.00578.x>
- Hoerstrup, S. P., Kadner, A., Breymann, C., Maurus, C. F., Guenter, C. I., Sodian, R., ... Turina, M. I. (2002). Living, autologous pulmonary artery conduits tissue engineered from human umbilical cord cells. *The Annals of Thoracic Surgery*, 74(1), 46–52; discussion 52.
- Hoffman, A. S., Sc, D., Schoen, F. J., Ph, D. & Lemons, J. E. (2012). *Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine*.
- Holland, T. A., & Mikos, A. G. (2003). Advances in drug delivery for articular cartilage. *Journal of Controlled Release*, 86(1), 1–14. [http://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00373-5](http://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00373-5)
- Hollander, A. P. & Hatton, P. V. (2004). *Methods in Tissue* (Vol. 238).
- Holzapfel, B. M., Reichert, J. C., Schantz, J.-T., Gbureck, U., Rackwitz, L., Nöth, U., ... Huttmacher, D. W. (2013). How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(4), 581–603. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.009>
- Hopkins, J. & Johnson, S. (1993). *Human Biology and Health*. Englewood Cliffs, New Jersey, USA: Prentice Hall.

- Horch, R. E., Pepescu, L. M., Vacanti, C. & Maio, G. (2008). Ethical issues in cellular and molecular medicine and tissue engineering. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12(5B), 1785–93. <http://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00460.x>
- Huang, Y., Kong, J. F. & Venkatraman, S. S. (2014). Biomaterials and design in occlusion devices for cardiac defects: A review. *Acta Biomaterialia*, 10(3), 1088–101. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.003>
- Hunter, J. (1771). *The natural history of the human teeth*. London: Johnson.
- Ikada, Y. (2006a). Animal and Human Trials of Engineered Tissues. In *Tissue engineering: Fundamentals and Applications*, 8, 1–469).
- Ikada, Y. (2006b). Challenges in tissue engineering. *J. R. Soc. Interface*, 3, 589–601.
- Ikada, Y. (2006c). Scope of Tissue Engineering. In *Tissue engineering: Fundamentals and Applications* (pp. 1–89).
- Ikada, Y. (2006d). *Tissue Engineering: Fundamentals and Applications*. Academic Press.
- Innovation & creativity development. (2011). *La neurona*.
- Isaacson, B. M. & Bloebaum, R. D. (2010). Bone bioelectricity: what have we learned in the past 160 years? *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 95(4), 1270–9. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.32905>
- Isenberg, B. C., Williams, C., & Tranquillo, R. T. (2006). Small-diameter artificial arteries engineered in vitro. *Circulation Research*, 98(1), 25–35. <http://doi.org/10.1161/01.RES.0000196867.12470.84>
- Jana, S., Gandhi, A., Kk, S. & Sk, B. (2011). Natural Polymers and their Application in Drug Delivery and Biomedical Field. *Journal of PharmaSciTech*, 1(1), 16–27.
- Jeon, J.H., Lee, J.H. and Lee, H. B. (1997). Interaction of fibroblasts on microgrooved polyethylene surfaces with wettability gradient. *Biomater. Res.*, 1(1-6).
- Jha, B. S., Colello, R. J., Bowman, J. R., Sell, S. a, Lee, K. D., Bigbee, J. W., ... Simpson, D. G. (2011). Two pole air gap electrospinning: Fabrication of highly aligned, three-dimensional scaffolds for nerve reconstruction. *Acta Biomaterialia*, 7(1), 203–15. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.08.004>
- Ji, L., Allen-Hoffmann, B. L., de Pablo, J. J. & Palecek, S. P. (2006). Generation and differentiation of human embryonic stem cell-derived keratinocyte precursors. *Tissue Engineering*, 12(4), 665–79. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.665>
- Jin, G., Prabhakaran, M. P. & Ramakrishna, S. (2011). Stem cell differentiation to epidermal lineages on electrospun nanofibrous substrates for skin tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7(8), 3113–22. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.04.017>
- JL, S., TD, R., JR, P., ED, R., VP, T., J, K., & JL, R. (2003). Engineered cellular response to scaffold architecture in a rabbit trephine defect. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 66, 275–282.
- John D. Currey. (1999). THE DESIGN OF MINERALISED HARD TISSUES FOR THEIR MECHANICAL FUNCTIONS. *Journal of Experimental Biology*, 3294, 3285–3294.
- Johnsen, S., Vanscheidt, E., E., S., W., T., Bannasch, H., Zschocke, I., ... Hubermuth, T. E. V. H. (2005). Treatment of therapy-refractive ulcera cruris of various origins with autologous keratinocytes in fibrin sealant. *Vasa*, 34.

- Jolly, J. (1903). Sur la durée de la vie et de la multiplication des cellules animales en dehors de l'organisme. *Compt Rend Soc Biol Paris*, 55, 1266.
- Jones, I., Currie, L. & Martin, R. (2002). A guide to biological skin substitutes. *British Journal of Plastic Surgery*, 55(3), 185–93. <http://doi.org/10.1054/bjps.2002.3800>
- Jones, J. R. (2013). Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia*, 9(1), 4457–86. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.08.023>
- Juhasz, J. (2004). Mechanical properties of glass-ceramic A–W-polyethylene composites: effect of filler content and particle size. *Biomaterials*, 25(6), 949–955. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.07.005>
- Jukes, J., Both, S., Post, J., Van Blitterswijk, C., Karperlen, M. & De Boer, J. (2008). Stem Cells. In *Tissue Engineering* (pp. 1–26).
- Kai, D., Prabhakaran, M. P., Jin, G. & Ramakrishna, S. (2013). Biocompatibility evaluation of electrically conductive nanofibrous scaffolds for cardiac tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(17), 2305. <http://doi.org/10.1039/c3tb00151b>
- Kamel, R. A., Ong, J. F., Eriksson, E., Junker, J. P. & Caterson, E. J. (2013). Tissue Engineering of Skin. *Journal of the American College of Surgeons*, null(null). <http://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2013.03.027>
- Kang, Y.-M., Kim, K.-H., Seol, Y.-J. & Rhee, S.-H. (2009). Evaluations of osteogenic and osteoconductive properties of a non-woven silica gel fabric made by the electrospinning method. *Acta Biomaterialia*, 5(1), 462–9. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.07.004>
- Karageorgiou, V., & Kaplan, D. (2005). Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*, 26(27), 5474–91. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.02.002>
- Kaustab. Ghosh, C. R. A. F. (2007). Wound Repair. In *Principles of tissue engineering* (pp. 1150–1166).
- Kavlock, K. D., Pechar, T. W., Hollinger, J. O., Guelcher, S. A. & Goldstein, A. S. (2007). Synthesis and characterization of segmented poly(esterurethane urea) elastomers for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 3(4), 475–84. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.02.001>
- Keane, T. J. & Badylak, S. F. (2014). *Biomaterials for tissue engineering applications*. Seminars in Pediatric Surgery. <http://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2014.06.010>
- Keene, E. (2013). *Concell center of materials research*.
- Keller, G. (1995). In vitro differentiation of embryonic stem cells. *Current Opinion in Cell Biology*, 7(6), 862–9.
- Keller, G. (2005). Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes & Development*, 19(10), 1129–55. <http://doi.org/10.1101/gad.1303605>
- Kelly, D. J., & Prendergast, P. J. (2006). Prediction of the optimal mechanical properties for a scaffold used in osteochondral defect repair. *Tissue Engineering*, 12(9), 2509–19. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2509>
- Khademhosseini, A. & Langer, R. (2007). Microengineered hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*, 28(34), 5087–92. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.07.021>
- Kharaziha, M., Fathi, M. H. & Edris, H. (2013). Effects of surface modification on the mechanical and structural properties of nanofibrous poly(ϵ -caprolactone)/forsterite scaffold for tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering: C*, 33(8), 4512–4519.

- Khojasteh, A., Behnia, H., Hosseini, F. S., Dehghan, M. M., Abbasnia, P. & Abbas, F. M. (2013). The effect of PCL-TCP scaffold loaded with mesenchymal stem cells on vertical bone augmentation in dog mandible: a preliminary report. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 101(5), 848–54. <http://doi.org/10.1002/jbm.b.32889>
- Kim, S., Kim, S.-S., Lee, S.-H., Eun Ahn, S., Gwak, S.-J., Song, J.-H., ... Chung, H.-M. (2008). In vivo bone formation from human embryonic stem cell-derived osteogenic cells in poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)/hydroxyapatite composite scaffolds. *Biomaterials*, 29(8), 1043–53. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.11.005>
- King, J., Hayes, J. D., & Richmond, B. (2013). Repair of giant subcostal hernia using porcine acellular dermal matrix (Strattice™) with bone anchors and pedicled omental flap coverage: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 7(1), 258. <http://doi.org/10.1186/1752-1947-7-258>
- Koay, E. J., Hoben, G. M. B. & Athanasiou, K. A. (2007). Tissue engineering with chondrogenically differentiated human embryonic stem cells. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 25(9), 2183–90. <http://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0105>
- Koh, C. T., Strange, D. G. T., Tonsomboon, K. & Oyen, M. L. (2013). Failure mechanisms in fibrous scaffolds. *Acta Biomaterialia*, 9(7), 7326–7334.
- Kolluru, P. V., Lipner, J., Liu, W., Xia, Y., Thomopoulos, S., Genin, G. M. & Chasiotis, I. (2013). Strong and tough mineralized PLGA nanofibers for tendon-to-bone scaffolds. *Acta Biomaterialia*.
- Kuboki, Y., Takita, H., Kobayashi, D., Tsuruga, E., Inoue, M., Murata, M., ... Ohgushi, H. (1998). BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: topology of osteogenesis. *Journal of Biomedical Materials Research*, 39, 190–199.
- Kumar, G., Tison, C. K., Chatterjee, K., Pine, P. S., McDaniel, J. H., Salit, M. L., ... Simon, C. G. (2011). The determination of stem cell fate by 3D scaffold structures through the control of cell shape. *Biomaterials*, 32(35), 9188–9196.
- Kumar, G., Waters, M. S., Farooque, T. M., Young, M. F. & Simon, C. G. (2012). Freeform fabricated scaffolds with roughened struts that enhance both stem cell proliferation and differentiation by controlling cell shape. *Biomaterials*, 33(16), 4022–4030.
- Kumbar, S. G., Nukavarapu, S. P., James, R., Nair, L. S. & Laurencin, C. T. (2008). Electrospun poly(lactic acid-co-glycolic acid) scaffolds for skin tissue engineering. *Biomaterials*, 29(30), 4100–7. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.06.028>
- Kunisaki, S. M. & Fauza, D. O. (2007). *Current state of clinical application*. In Principles of tissue engineering (pp. 1189–1200).
- L'Heureux, N., Dusserre, N., Marini, A., Garrido, S., de la Fuente, L. & McAllister, T. (2007). Technology insight: the evolution of tissue-engineered vascular grafts--from research to clinical practice. *Nature Clinical Practice. Cardiovascular Medicine*, 4(7), 389–95. <http://doi.org/10.1038/ncpcardio0930>
- L'heureux, N., Paquet, S., Labbe, R., Germain, L. & Auger, F. A. (1998). A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB J*, 12(1), 47–56.
- Lacroix, D., Chateau, A., Ginebra, M.-P. & Planell, J. A. (2006). Micro-finite element models of bone tissue-engineering scaffolds. *Biomaterials*, 27(30), 5326–5334.

- Ladd, M. R., Hill, T. K., Yoo, J. J. & Lee, S. J. (2008). *Electrospun Nanofibers in Tissue Engineering*.
- Lam, P. K., Chan, E. S., H, E. W., Lau, C. H., Yen, S. C. & King, W. (1999). Development and Evaluation of a New Composite Laserskin Graft. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*.
- Lammel, A., Hu, X., Park, S., Kaplan, D. L., Scheibel, T., Biotechnologie, L., & München, T. U. (2011). *Controlling silk fibroin particle features for drug delivery*, 31(16), 4583–4591. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.024>. Controlling
- Langer, R. (2007). Editorial: Tissue Engineering: Perspectives, Challenges, and Future Directions. *Tissue Engineering*, 13.
- Langer, R. (2009). Perspectives and challenges in tissue engineering and regenerative medicine. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 21(32-33), 3235–6. <http://doi.org/10.1002/adma.200902589>
- Langer, R. & Peppas, N. a. (2003). Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. *AIChE Journal*, 49(12), 2990–3006. <http://doi.org/10.1002/aic.690491202>
- Langer, R. & Vacanti, J. P. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260, 920–927.
- Langer, R. & Vacanti, J. P. J. P. (1993). Tissue engineering. *Science*, 260, 920–927.
- Lappin, M. B., Kimber, I. & Norval, M. (1996). The role of dendritic cells in cutaneous immunity. *Archives of Dermatological Research*, 288(3), 109–21.
- Larry, L, H. (1991). Bioceramics: From concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society*, 74, 1487–1510.
- Laschke, M. W., Harder, Y., Amon, M., Martin, I., Farhadi, J., Ring, A., ... Menger, M. D. (2006). Angiogenesis in tissue engineering: breathing life into constructed tissue substitutes. *Tissue Engineering*, 12(8), 2093–104. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2093>
- LeBaron, R. G. & Athanasiou, K. A. (2000). Extracellular matrix cell adhesion peptides: functional applications in orthopedic materials. *Tissue Engineering*, 6(2), 85–103. <http://doi.org/10.1089/107632700320720>
- Lee, A. Y., Mahler, N., Best, C., Lee, Y.-U. & Breuer, C. K. (2014). *Regenerative Implants for Cardiovascular Tissue Engineering*. Translational Research. <http://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.01.014>
- Lee, H. B. (1989). *Application of synthetic polymers in implants*. In and A. A. T. Seagusa, T., Higashimura (Ed.), *Frontiers of Macromolecular Science* (pp. 579–584). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Lee, J. & Yap, C. (2003). Embryo donation: a review. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 82(11), 991–6.
- Lee, K. H. (2000). Tissue-engineered human living skin substitutes: development and clinical application. *Yonsei Medical Journal*, 41(6), 774–9.
- Lee, Y.-S. & Livingston Arinzeh, T. (2011). Electrospun Nanofibrous Materials for Neural Tissue Engineering. *Polymers*, 3(4), 413–426. <http://doi.org/10.3390/polym3010413>
- Leipzig, N. D., Wylie, R. G., Kim, H. & Shoichet, M. S. (2011). Differentiation of neural stem cells in three-dimensional growth factor-immobilized chitosan hydrogel scaffolds. *Biomaterials*, 32(1), 57–64. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.031>
- Leitao, E. (1996). *Surface Modifications of Biomaterials vs Biological Behaviour*. University of Oporto.
- Lentes y Presbicia - Salud a la Vista. (n.d.). Retrieved May 4, 2014, from http://saludalavista.com/2010/08/lentes-y-presbicia-ricardo_bittelmann/
- Leor, J., Aboulafia-Etzion, S., Dar, A., Shapiro, L., Barbash, I. M., Battler, A., ... Cohen, S. (2000).

- Bioengineered cardiac grafts: A new approach to repair the infarcted myocardium?* *Circulation*, 102(19 Suppl 3), III56–61.
- Leor, J., Amsalem, Y. & Cohen, S. (2005). Cells, scaffolds, and molecules for myocardial tissue engineering. *Pharmacology & Therapeutics*, 105(2), 151–63. <http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2004.10.003>
- Levenberg, S., Rouwkema, J., Macdonald, M., Garfein, E. S., Kohane, D. S., Darland, D. C., ... Langer, R. (2005). Engineering vascularized skeletal muscle tissue. *Nature Biotechnology*, 23(7), 879–84. <http://doi.org/10.1038/nbt1109>
- Lewin, M. & Preston, J. (1991). HANDBOOK OF FIBER SCIENCE AND TECHNOLOGY VOLUME III High Technology Fibers Part B. *Materials and Manufacturing Processes*, 6(4), 745–748. <http://doi.org/10.1080/10426919108934805>
- Li, Y., Coughlan, A., Laffir, F. R., Pradhan, D., Mellott, N. P., & Wren, A. W. (2013). Investigating the mechanical durability of bioactive glasses as a function of structure, solubility and incubation time. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 380, 25–34. <http://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2013.08.023>
- Lim, H. R., Baek, H. S., Lee, M. H., Woo, Y. I., Han, D.-W., Han, M. H., ... Park, J.-C. (2008). Surface modification for enhancing behaviors of vascular endothelial cells onto polyurethane films by microwave-induced argon plasma. *Surface and Coatings Technology*, 202(22-23), 5768–5772. <http://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2008.06.115>
- Lin, K., Xia, L., Li, H., Jiang, X., Pan, H., Xu, Y., ... Chang, J. (2013). *Enhanced osteoporotic bone regeneration by strontium-substituted calcium silicate bioactive ceramics*. *Biomaterials*.
- Lindberg, K., & Badylak, S. F. (2001). Porcine small intestinal submucosa (SIS): a bioscaffold supporting in vitro primary human epidermal cell differentiation and synthesis of basement membrane proteins. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 27(3), 254–66.
- Liu, C., Xia, Z. & Czernuszka, J. T. (2007). Design and Development of Three-Dimensional Scaffolds for Tissue Engineering. *Chemical Engineering Research and Design*, 85(7), 1051–1064. <http://doi.org/10.1205/cherd06196>
- Liu, X. Rahaman, M. N., Hilmas, G. E., & Bal, B. S. (2013). Mechanical properties of bioactive glass (13-93) scaffolds fabricated by robotic deposition for structural bone repair. *Acta Biomaterialia*, 9(6), 7025–7034.
- LIU, X. & X.MA, P. (2004). Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 32(3), 477–486.
- Liu, Y., Lim, J. & Teoh, S.-H. (2013). Review: Development of clinically relevant scaffolds for vascularised bone tissue engineering. *Biotechnology Advances*, 31(5), 688–705.
- Ljunggren, C. A. (1898). Von der Fähigkeit des Hautepithels, ausserhalb des Organismus sein Leben zu behalten, mit Berücksichtigung der Transplantation. *Dtsch Z Chir*, (47), 608.
- Loeb, L. (1897). Ueber die Entstehung von Bindegewebe, Leukocyten und roten Blutkörperchen aus Epithel und über eine Methode, isolierte Gewebsteile zu züchten. Chicago.
- Lorenz, H. P., & Adzick, N. S. (1993). Scarless skin wound repair in the fetus. *The Western Journal of Medicine*, 159(3), 350–5.
- Lovmand, J., Justesen, J., Foss, M., Lauridsen, R. H., Lovmand, M., Modin, C., ... Duch, M. (2009). The use of combinatorial topographical libraries for the screening of enhanced osteogenic expression and mineralization. *Biomaterials*, 30(11), 2015–2022.

- Lu, L., Yaszemski, M. J., Jain, A., Kim, Y.-T., McKeon, R. J. & Bellamkonda, R. V. (2006). In situ gelling hydrogels for conformational repair of spinal cord defects, and local delivery of BDNF after spinal cord injury. *Biomaterials*, 27(3), 497–504.
- Lukish, J. R., Eichelberger, M. R., Newman, K. D., Pao, M., Nobuhara, K., Keating, M., ... Hartman, G. E. (2001). The use of a bioactive skin substitute decreases length of stay for pediatric burn patients. *Journal of Pediatric Surgery*, 36(8), 1118–1121.
- Lundberg, M. (2013). Cardiovascular tissue engineering research support at the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation Research*, 112(8), 1097–103. <http://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300638>
- Lysaght, M. J. & Reyes, J. (2001). The growth of tissue engineering. *Tissue Engineering*, 7(5), 485–93. <http://doi.org/10.1089/107632701753213110>
- Ma, P. X. (2004). Scaffolds for tissue fabrication. *Materials Today*, 7(5), 30–40. [http://doi.org/10.1016/S1369-7021\(04\)00233-0](http://doi.org/10.1016/S1369-7021(04)00233-0)
- Ma, T., Li, Y., Yang, S. T. & Kniss, D. A. (2000). Effects of pore size in 3-D fibrous matrix on human trophoblast tissue development. *Biotechnology and Bioengineering*, 70(6), 606–18.
- Ma, Z., He, W., Yong, T. & Ramakrishna, S. (2005). Grafting of gelatin on electrospun poly(caprolactone) nanofibers to improve endothelial cell spreading and proliferation and to control cell Orientation. *Tissue Engineering*, 11(7-8), 1149–1158. <http://doi.org/10.1089/ten.2005.11.1149>
- Ma, Z., Kotaki, M., Inai, R. & Ramakrishna, S. (2005). Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue Engineering*, 11(1-2), 101–9. <http://doi.org/10.1089/ten.2005.11.101>
- Ma, Z., Mao, Z. & Gao, C. (2007). Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering. *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, 60(2), 137–57. <http://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.019>
- Macchiarini, P., Jungebluth, P., Go, T., Asnaghi, M. A., Rees, L. E., Cogan, T. A., ... Birchall, M. A. (2008). Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet*, 372(9655), 2023–30. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61598-6](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61598-6)
- MacNeil, S. (2007). Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature*, 445(7130), 874–80. <http://doi.org/10.1038/nature05664>
- Madigan, N. N., McMahon, S., O'Brien, T., Yaszemski, M. J. & Windebank, A. J. (2009). Current tissue engineering and novel therapeutic approaches to axonal regeneration following spinal cord injury using polymer scaffolds. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 169(2), 183–99. <http://doi.org/10.1016/j.resp.2009.08.015>
- Mansbridge, J. (2007). *Tissue-Engineered Skin Products*. In Principles of tissue engineering (pp. 1201–1213).
- Marcacci, M., Berruto, M., Brocchetta, D., Delcogliano, A., Ghinelli, D., Gobbi, A., ... Zanasi, S. (2005). Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (435), 96–105.
- Martin, G. R. (1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78(12), 7634–8.
- Martin, I., Wendt, D. & Heberer, M. (2004). The role of bioreactors in tissue engineering. *Trends in Biotechnology*, 22(2), 80–6. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2003.12.001>

- Martin, P. & Leibovich, S. J. (2005). Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*, 15(11), 599–607. <http://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.09.002>
- Mata, A., Kim, E. J., Boehm, C. A., Fleischman, A. J., Muschler, G. F. & Roy, S. (2009). A three-dimensional scaffold with precise micro-architecture and surface micro-textures. *Biomaterials*, 30(27), 4610–4617.
- McKay, I. A. & Leigh, I. M. (1991). Epidermal cytokines and their roles in cutaneous wound healing. *The British Journal of Dermatology*, 124(6), 513–8.
- Meng, S., Rouabhia, M. & Zhang, Z. (2013). Electrical stimulation modulates osteoblast proliferation and bone protein production through heparin-bioactivated conductive scaffolds. *Bioelectromagnetics*, 34(3), 189–99. <http://doi.org/10.1002/bem.21766>
- Meng, S., Zhang, Z. & Rouabhia, M. (2011). Accelerated osteoblast mineralization on a conductive substrate by multiple electrical stimulation. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 29(5), 535–44. <http://doi.org/10.1007/s00774-010-0257-1>
- Merrill, J. P., Murray, J. E. & Harrison, J. H. (1956). Successful homotransplantation of human kidney between identical twins. *J Am Med Assoc*, 160, 277–282.
- Merryman, W. D. (2008). Development of a tissue engineered heart valve for pediatrics: a case study in bioengineering ethics. *Science and Engineering Ethics*, 14(1), 93–101. <http://doi.org/10.1007/s11948-008-9053-x>
- Metcalf, A. D. & Ferguson, M. W. J. (2007). Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair. *Biomaterials*, 28(34), 5100–13. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.07.031>
- Meyer, U. (2008). *General and Ethical aspects*. In *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (pp. 1–47).
- Meyer, U., Handschel, J., Wiesmann, H. P. & Meyer, T. (2008). *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (1st ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/978-3-540-77755-7>
- Meyer, U., Joos, U. & Wiesmann, H. P. (2004). Biological and biophysical principles in extracorporeal bone tissue engineering. Part III. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 33(7), 635–41. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2004.04.006>
- Meyer, U., Meyer, T., Handschel, J. J., Wiesmann, H. P. & Meyer, T. (2009). *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (1st ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/978-3-540-77755-7>
- Meyer, U., Meyer, T., Handschel, J. & Wiesmann, H. P. (2009). *Biophysical Stimulation of Cells and Tissues in Bioreactors*. In *Fundamentals of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* (pp. 633–644). Springer.
- Mironov, V., Kasyanov, V. & Markwald, R. R. (2008). Nanotechnology in vascular tissue engineering: from nanoscaffolding towards rapid vessel biofabrication. *Trends in Biotechnology*, 26(6), 338–44. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.03.001>
- Mitchell, G. R. & Davis, F. (2011). Electrospinning and Tissue Engineering. In P. R. Fernandes & P. J. Bártolo (Eds.). *Advances on Modeling in Tissue Engineering* 20, 111–136). Dordrecht: Springer Netherlands. <http://doi.org/10.1007/978-94-007-1254-6>
- Mohamed, A. & Xing, M. M. (2012). Nanomaterials and nanotechnology for skin tissue engineering. *International Journal of Burns and Trauma*, 2(1), 29–41.

- Moreno, S. S. (2013). *Carbon Reinforced UHMWPE Composites for Orthopaedic Applications*. Lulea University of Technology. Retrieved from http://pure.ltu.se/portal/files/41870673/Silvia_Su_er.Komplett.pdf
- Morimoto, N., Saso, Y., Tomihata, K., Taira, T., Takahashi, Y., Ohta, M. & Suzuki, S. (2005). Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in dermal substitutes after implantation. *The Journal of Surgical Research*, 125(1), 56–67. <http://doi.org/10.1016/j.jss.2004.11.012>
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.jvs.2005.01.042>
- Moustafa, M., Bullock, A. J., Creagh, F. M., Heller, S., Jeffcoate, W., Game, F., ... MacNeil, S. (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. <http://doi.org/10.2217/17460751.2.6.887>
- Moustafa, M., Simpson, C., Glover, M., Dawson, R. A., Tesfaye, S., Creagh, F. M., ... MacNeil, S. (2004). A new autologous keratinocyte dressing treatment for non-healing diabetic neuropathic foot ulcers. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 21(7), 786–9. <http://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2004.01166.x>
- Muhart, M., McFalls, S., Kirsner, R., Kerdel, F., & Eaglstein, W. H. (1997). Bioengineered skin. *Lancet*, 350(9085), 1142. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)63788-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)63788-9)
- Munster, A. M. (1996). Cultured skin for massive burns. A prospective, controlled trial. *Annals of Surgery*, 224(3), 372–5; discussion 375–7.
- Muschler, G. F., Nakamoto, C., & Griffith, L. G. (2004). Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American*, 86-A(7), 1541–58.
- Myers, S. R., Partha, V. N., Soranzo, C., Price, R. D. & Navsaria, H. A. (2007). Hyalomatrix: a temporary epidermal barrier, hyaluronan delivery, and neoderms induction system for keratinocyte stem cell therapy. *Tissue Engineering*, 13(11), 2733–41. <http://doi.org/10.1089/ten.2007.0109>
- Nair, L. S. & Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32(8-9), 762–798. <http://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017>
- Nam, Y. S. & Park, T. G. (1999). Porous biodegradable polymeric scaffolds prepared by thermally induced phase separation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 47(1), 8–17.
- National University of Singapore. (2012). *Biomaterials/Tissue Engineering and Repair*.
- Navarro, Orgill, Park, Stoner & Woo. (2000). Sprayed Keratinocyte Suspensions Accelerate Epidermal Coverage in a Porcine Microwound Model. *Journal of Burn Care & Research*.
- Nemeno-Guanzon, J. (2012). *Trends in tissue engineering for blood vessels*. *BioMed Research ...*, 2012, 956345. <http://doi.org/10.1155/2012/956345>
- Nerem, R. M. & Sambanis, A. (1995). Tissue engineering: from biology to biological substitutes. *Tissue Engineering*, 1(1), 3–13. <http://doi.org/10.1089/ten.1995.1.3>
- Nisbet, D. R., Crompton, K. E., Horne, M. K., Finkelstein, D. I. & Forsythe, J. S. (2008). Neural tissue engineering of the CNS using hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 87(1), 251–63. <http://doi.org/10.1002/jbm.b.31000>

- Nisbet, D. R., Rodda, A. E., Horne, M. K., Forsythe, J. S., & Finkelstein, D. I. (2009). Neurite infiltration and cellular response to electrospun polycaprolactone scaffolds implanted into the brain. *Biomaterials*, *30*(27), 4573–80. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.05.011>
- Nombela-Arrieta, C., Ritz, J. & Silberstein, L. E. (2011). The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *12*(2), 126–31. <http://doi.org/10.1038/nrm3049>
- Obradovic, B., Martin, I., Freed, L. E. & Vunjak-Novakovic, G. (2003). Towards Functional Cartilage Equivalents: Bioreactor Cultivation of Cell-Polymer Constructs. *Materials Science Forum*, *413*, 251–256.
- Oerlemans, A. J. M., van den Berg, P. P., van Leeuwen, E. & Dekkers, W. J. M. (2011). Ethical issues regarding the donation and source of cells for tissue engineering: a European focus group study. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, *17*(4), 229–34. <http://doi.org/10.1089/ten.TEB.2010.0683>
- Okamoto, M. & John, B. (2013). *Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds*. *Progress in Polymer Science*, null(null), 1487–1503. <http://doi.org/10.1016/j.propolymsci.2013.06.001>
- Olivier, V., Faucheux, N. & Hardouin, P. (2004). Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery. *Drug Discovery Today*, *9*(18), 803–11. [http://doi.org/10.1016/S1359-6446\(04\)03222-2](http://doi.org/10.1016/S1359-6446(04)03222-2)
- Organogenesis. (2010). *Apligraf*.
- 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.
- Ortinou, S., Schmich, J., Block, S., Liedmann, A., Jonas, L., Weiss, D. G., ... Frech, M. J. (2010). Effect of 3D-scaffold formation on differentiation and survival in human neural progenitor cells. *Biomedical Engineering Online*, *9*, 70. <http://doi.org/10.1186/1475-925X-9-70>
- Osswald, Baur, Brinkmann, Oberbach, S. (2006). *International Plastics Handbook. The resource for Plastics Engineers*. Munich - Alemania: Carl Hanser Verlag.
- Ott, H. C., Matthiesen, T. S., Goh, S.-K., Black, L. D., Kren, S. M., Netoff, T. I. & Taylor, D. A. (2008). Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nature Medicine*, *14*(2), 213–21. <http://doi.org/10.1038/nm1684>
- Pacheco, V. & Roldán, S. (2012). *Metalurgia en Prótesis Total de Cadera*. In *Artroplastia Total de Cadera* (pp. 343–370). Bogotá: Sociedad Colombiana de Cirugía Ortopédica y Traumatología.
- Pachence, J. M., Bohrer, M. P. & Kohn, J. (2007). *Biodegradable polymers*. In *Principles of tissue engineering* (pp. 323–339). <http://doi.org/10.1016/B978-012370615-7/50027-5>
- Paré, A., Baker, G., Cecil, T. & Johnson, T. (1634). *The works of that famous Chirurgion Ambrose Parey*. Cotes and Young.
- Park, B. J., Seo, H. J., Kim, J. K. J., Kim, H.-L., Kim, J. K. J., Choi, J. B., ... Park, J.-C. (2010). Cellular responses of vascular endothelial cells on surface modified polyurethane films grafted electrospun PLGA fiber with microwave-induced plasma at atmospheric pressure. *Surface and Coatings Technology*, *205*, S222–S226. <http://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.07.087>
- Park, J. & Bronzino, J. D. (2003). *Biomaterials: principles and applications*. Boca Raton (Florida): CRC Press.

- 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. <http://doi.org/10.1016/j.cursur.2006.05.003>
- Pärsson, H., Jundzill, W., Johansson, K., Jonung, T. & Norgren, L. (1994). Healing characteristics of polymer-coated or collagen-treated Dacron grafts: an experimental porcine study. *Cardiovascular Surgery (London, England)*, 2(2), 242–8.
- Pasumarthi, K. B. S. & Field, L. J. (2002). Cardiomyocyte cell cycle regulation. *Circulation Research*, 90(10), 1044–54.
- Patel, H., Bonde, M., & Srinivasan, G. (2011). Biodegradable Polymer Scaffold for Tissue Engineering. *Trends Biomater. Artif. Organs*, 25(1), 20–29.
- Patel, M. & Fisher, J. P. (2008). Biomaterial scaffolds in pediatric tissue engineering. *Pediatric Research*, 63(5), 497–501. <http://doi.org/10.1203/01.PDR.0b013e318165eb3e>
- Patrick, C. W., Mikos, A. G., McIntire, L. V. & Langer, R. (1998). *Frontiers in Tissue Engineering*. Pergamon.
- Pawlowski, K. J., Barnes, C. P., Boland, E. D., Wnek, G. E. & Bowlin, G. L. (2011). Biomedical Nanoscience: Electrospinning Basic Concepts, Applications, and Classroom Demonstration. *MRS Proceedings*, 827, BB1.7. <http://doi.org/10.1557/PROC-827-BB1.7>
- Peck, M., Gebhart, D., Dusserre, N., McAllister, T. N., & L'Heureux, N. (2012). The evolution of vascular tissue engineering and current state of the art. *Cells, Tissues, Organs*, 195(1-2), 144–58. <http://doi.org/10.1159/000331406>
- PEEK usage climbs for devices. (n.d.). Retrieved November 19, 2015, from <http://medicaldesign.com/materials/peek-usage-climbs-devices>
- Pêgo, A. P., Poot, A. A., Grijpma, D. W. & Feijen, J. (2003). Biodegradable elastomeric scaffolds for soft tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 87(1-3), 69–79. [http://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00351-6](http://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00351-6)
- Pei, M., Solchaga, L. A., Seidel, J., Zeng, L., Vunjak-Novakovic, G., Caplan, A. I. & Freed, L. E. (2002). Bioreactors mediate the effectiveness of tissue engineering scaffolds. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(12), 1691–4. <http://doi.org/10.1096/fj.02-0083fje>
- Pereira, R., Barrias, C., Granja, P. & Bartolo, P. (2013). *Advanced Biofabrication Strategies for Skin Regeneration and Repair*. Nanomedicine.
- Peres, J. A. & Lamano, T. (2011). Strategies for stimulation of new bone formation: a critical review. *Brazilian Dental Journal*, 22(6), 443–448. <http://doi.org/10.1590/S0103-64402011000600001>
- Pérez, R. A., Won, J.-E., Knowles, J. C. & Kim, H.-W. (2013). Naturally and synthetic smart composite biomaterials for tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(4), 471–96. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2012.03.009>
- Peter X.M.A. (2007). *Tissue Engineering*. Polymer Science and Technology. Elsevier.
- Pettikiriarachchi, J. T. S., Parish, C. L., Shoichet, M. S., Forsythe, J. S. & Nisbet, D. R. (2010). Biomaterials for Brain Tissue Engineering. *Australian Journal of Chemistry*, 63(8), 1143. <http://doi.org/10.1071/CH10159>
- Phillips, T. J. & Gilchrest, B. A. (1991). Cultured epidermal allografts as biological wound dressings. *Progress in Clinical and Biological Research*, 365, 77–94.

- Piantino, J., Burdick, J. A., Goldberg, D., Langer, R. & Benowitz, L. I. (2006). An injectable, bio-degradable hydrogel for trophic factor delivery enhances axonal rewiring and improves performance after spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 201(2), 359–67. <http://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.04.020>
- Pierson, I. R., White, D. J. & Wallwork, J. (1993). Ethical considerations in clinical cardiac xenografting. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 12(5), 876–878.
- Place, E. S., Evans, N. D. & Stevens, M. M. (2009). Complexity in biomaterials for tissue engineering. *Nature Materials*, 8(6), 457–470. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19458646>
- Plate, U., Polifke, T., Sommer, D., Wünnenberg, J. & Wiesmann, H.-P. (2006). *Kinetic oxygen measurements by CVC96 in L-929 cell cultures*. *Head & Face Medicine*, 2, 6. <http://doi.org/10.1186/1746-160X-2-6>
- Pok, S., Myers, J. D., Madihally, S. V. & Jacot, J. G. (2013). A multilayered scaffold of a chitosan and gelatin hydrogel supported by a PCL core for cardiac tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 9(3), 5630–42. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.10.032>
- Polak, J., Mantalaris, S. & Harding, S. E. (2008a). *Advances In Tissue Engineering*. Imperial College Press; 1 edition.
- Polak, J., Mantalaris, S. & Harding, S. E. (2008b). *Advances in tissue engineering*.
- Pörtner, R., Nagel-Heyer, S., Goepfert, C., Adamietz, P. & Meenen, N. M. (2005). *Bioreactor design for tissue engineering*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(3), 235–45. <http://doi.org/10.1263/jbb.100.235>
- Powers, M. J., Janigian, D. M., Wack, K. E., Baker, C. S., Beer Stolz, D. & Griffith, L. G. (2002). Functional behavior of primary rat liver cells in a three-dimensional perfused microarray bioreactor. *Tissue Engineering*, 8(3), 499–513. <http://doi.org/10.1089/107632702760184745>
- Prabhakaran, M. P., Venugopal, J., Kai, D. & Ramakrishna, S. (2011). Biomimetic material strategies for cardiac tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 31(3), 503–513. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2010.12.017>
- Pretell Mazzini, J. A., Ruiz Semba, C. & Rodríguez, M. J. (2009). Trastornos de la consolidación: Retardo y pseudoartrosis. *Rev Med Hered*, 20, 31–39.
- Price, R. D., Berry, M. G. & Navsaria, H. A. (2007). Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery : JPRAS*, 60(10), 1110–9. <http://doi.org/10.1016/j.bjps.2007.03.005>
- Price, R. D., Das-Gupta, V., Harris, P. A., Leigh, I. M. & Navsaria, H. A. (2004). The role of allogenic fibroblasts in an acute wound healing model. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 113(6), 1719–29.
- Price, R. D., Das-Gupta, V., Leigh, I. M. & Navsaria, H. A. (2006). A comparison of tissue-engineered hyaluronic acid dermal matrices in a human wound model. *Tissue Engineering*, 12(10), 2985–95. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2985>
- Prieto, S. (2005). *Fisiología del hueso*. In J. Tresguerres, C. Ariznavarreta, V. Cachofeiro, D. Cardinalli, E. Escrich, P. Gil Loyzaga, ... J. Tamargo Menéndez (Eds.), *Fisiología Humana* (3ra ed., pp. 981–994). Madrid: Mc Graw Hill.
- Pruitt, B. A. (1997). The evolutionary development of biologic dressings and skin substitutes. *The Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 18(1 Pt 2), S2–5.

- Psaltis, P. J., Zannettino, A. C. W., Worthley, S. G. & Gronthos, S. (2008). Concise review: mesenchymal stromal cells: potential for cardiovascular repair. *Stem Cells*, 26(9), 2201–10. <http://doi.org/10.1634/stemcells.2008-0428>
- Qu, X., Cui, W., Yang, F., Min, C., Shen, H., Bei, J. & Wang, S. (2007). The effect of oxygen plasma pretreatment and incubation in modified simulated body fluids on the formation of bone-like apatite on poly(lactide-co-glycolide) (70/30). *Biomaterials*, 28(1), 9–18.
- Rabkin, E. & Schoen, F. J. (2002). Cardiovascular tissue engineering. *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, 11(6), 305–17.
- Radhakrishnan, J., Krishnan, U. M., & Sethuraman, S. (2014). Hydrogel based injectable scaffolds for cardiac tissue regeneration. *Biotechnology Advances*. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.12.010>
- Radisic, M., Deen, W., Langer, R. & Vunjak-Novakovic, G. (2005). Mathematical model of oxygen distribution in engineered cardiac tissue with parallel channel array perfused with culture medium containing oxygen carriers. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 288(3), H1278–89. <http://doi.org/10.1152/ajpheart.00787.2004>
- Radisic, M., Malda, J., Epping, E., Geng, W., Langer, R. & Vunjak-Novakovic, G. (2006). Oxygen gradients correlate with cell density and cell viability in engineered cardiac tissue. *Biotechnology and Bioengineering*, 93(2), 332–43. <http://doi.org/10.1002/bit.20722>
- Radisic, M., Park, H., Chen, F., Salazar-Lazzaro, J. E., Wang, Y., Dennis, R., ... Vunjak-Novakovic, G. (2006). Biomimetic approach to cardiac tissue engineering: oxygen carriers and channeled scaffolds. *Tissue Engineering*, 12(8), 2077–2099.
- Radisic, M., Park, H., Chen, F., Salazar-Lazzaro, J. E., Wang, Y., Dennis, R., ... Vunjak-Novakovic, G. (2006). Biomimetic approach to cardiac tissue engineering: oxygen carriers and channeled scaffolds. *Tissue Engineering*, 12(8), 2077–91. <http://doi.org/10.1089/ten.2006.12.2077>
- Radisic, M., Park, H., Martens, T. P., Salazar-Lazaro, J. E., Geng, W., Wang, Y., ... Vunjak-Novakovic, G. (2008). Pre-treatment of synthetic elastomeric scaffolds by cardiac fibroblasts improves engineered heart tissue. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 86(3), 713–24. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.31578>
- Radisic, M., Park, H. & Vunjak-Novakovic, G. (2007). *Cardiac tissue engineering*. In *Principles of Tissue Engineering* (pp. 551–567). Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-012370615-7/50042-1>
- Radisic, M. & Vunjak-Novakovic, G. (2005). Cardiac tissue engineering. *J. Serb. Chem. Soc.*, 70(3), 541–556.
- Rahaman, M. N., Day, D. E., Bal, B. S., Fu, Q., Jung, S. B., Bonewald, L. F., & Tomsia, A. P. (2011). Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7(6), 2355–73. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.03.016>
- Rainer, A., Giannitelli, S. M., Abbruzzese, F., Traversa, E., Licocchia, S. & Trombetta, M. (2008). Fabrication of bioactive glass-ceramic foams mimicking human bone portions for regenerative medicine. *Acta Biomaterialia*, 4(2), 362–9. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.08.007>
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.-E., Yong, T., Ma, Z. & Ramaseshan, R. (2006). Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials Today*, 9(3), 40–50. [http://doi.org/10.1016/S1369-7021\(06\)71389-X](http://doi.org/10.1016/S1369-7021(06)71389-X)
- Ramos-e-Silva, M. & Ribeiro de Castro, M. C. (2002). New dressings, including tissue-engineered living skin. *Clinics in Dermatology*, 20(6), 715–723.

- Rao, S. S. & Winter, J. O. (2009). Adhesion molecule-modified biomaterials for neural tissue engineering. *Frontiers in Neuroengineering*, 2(June), 6. <http://doi.org/10.3389/neuro.16.006.2009>
- Ratcliffe, A. & Niklason, L. E. (2002). Bioreactors and bioprocessing for tissue engineering. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 961, 210–5.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J. & Lemons, J. E. (1996). *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine*. Academic Press.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J. & Lemons, J. E. (2004). *Biomaterials Science*. Academic Press.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J. & Lemons, J. E. (2013). *Biomaterials Science: An Evolving, Multidisciplinary Endeavor*. *Biomaterials Science*. Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00153-4>
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., Lemons, J. E., Sc, D., Schoen, F. J., ... Lemons, J. E. (2012). *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine*. Academic Press.
- Regenicin Inc. (2011). PermaDerm® tissue-engineered skin.
- Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J. & Boccaccini, A. R. (2006). Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 27(18), 3413–31. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.039>
- Ricciardi, B. F. & Bostrom, M. P. (2013). Bone graft substitutes: Claims and credibility. *Seminars in Arthroplasty*, 24(2), 119–123. <http://doi.org/10.1053/j.sart.2013.07.002>
- Risbud, M. V. & Sittinger, M. (2002). Tissue engineering: advances in in vitro cartilage generation. *Trends in Biotechnology*, 20(8), 351–356. [http://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)02016-4](http://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)02016-4)
- Robertson, J. A. (1995). Ethical and legal issues in human embryo donation. *Fertility and Sterility*, 64(5), 885–94.
- Rockwood, D. N., Akins, R. E., Parrag, I. C., Woodhouse, K. A., & Rabolt, J. F. (2008). Culture on electrospun polyurethane scaffolds decreases atrial natriuretic peptide expression by cardiomyocytes in vitro. *Biomaterials*, 29(36), 4783–91. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.08.034>
- Rogina, A. (2014). Electrospinning process: Versatile preparation method for biodegradable and natural polymers and biocomposite systems applied in tissue engineering and drug delivery. *Applied Surface Science*, 296, 221–230. <http://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.01.098>
- Rojansky, N. & Schenker, J. G. (1993). The use of fetal tissue for therapeutic applications. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 41(3), 233–240.
- Romanelli, M., Dini, V., Bertone, M., Barbanera, S. & Brillì, C. (2007). OASIS wound matrix versus Hyaloskin in the treatment of difficult-to-heal wounds of mixed arterial/venous aetiology. *International Wound Journal*, 4(1), 3–7. <http://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2007.00300.x>
- Rubin, C. T. & Lanyon, L. E. (1987). Kappa Delta Award paper. Osteoregulatory nature of mechanical stimuli: function as a determinant for adaptive remodeling in bone. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 5(2), 300–10. <http://doi.org/10.1002/jor.1100050217>
- Rue, L. W., Cioffi, W. G., McManus, W. F. & Pruitt, B. A. (1993). Wound closure and outcome in extensively burned patients treated with cultured autologous keratinocytes. *The Journal of Trauma*, 34(5), 662–7; discussion 667–8.

- Russell, A. J. & Bertram, T. (2007). *Three Moving into the Clinic*.
- Sabolinski, M. L., Álvarez, O., Auletta, M., Mulder, G. & Parenteau, N. L. (1996). Cultured skin as a “smart material” for healing wounds: experience in venous ulcers. *Biomaterials*, 17(3), 311–20.
- Sachlos, E. & Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *European Cells & Materials*, 5, 29–39; discussion 39–40.
- Saha, S. & Saha, P. (1987). Bioethics and applied biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res: Appl. Biomat*, 21, 181–190.
- Sales, K. M., Salacinski, H. J., Alobaid, N., Mikhail, M., Balakrishnan, V. & Seifalian, A. M. (2005). Advancing vascular tissue engineering: the role of stem cell technology. *Trends in Biotechnology*, 23(9), 461–7. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.06.006>
- Saltzman, W. M., Mak, M. W., Mahoney, M. J., Duenas, E. T. & Cleland, J. L. (1999). Intracranial delivery of recombinant nerve growth factor: release kinetics and protein distribution for three delivery systems. *Pharmaceutical Research*, 16(2), 232–40.
- Samavedi, S., Whittington, A. R. & Goldstein, A. S. (2013). Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior. *Acta Biomaterialia*, 9(9), 8037–45. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.014>
- Sánchez-Salcedo, S., Nieto, A. & Vallet-Regí, M. (2008). Hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate/ agarose macroporous scaffolds for bone tissue engineering. *Chemical Engineering Journal*, 137(1), 62–71.
- Sanders, L. M. & Raffin, T. A. (1994). Ethical ground rules for fetal tissue research in the post-mortem era. *Chest*, 106(1), 2–4.
- Sawhney, A. S. & Drumheller, P. D. (1998). Polymer Synthesis. In *Frontiers in Tissue Engineering*, 111, 83–106. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag. <http://doi.org/10.1007/BFb0024124>
- Schiedermayer, D. & Shapiro, R. (1989). The artificial heart as a bridge to transplant: Ethical and legal issues at the bedside. *J. Heart Transplant*, 8(6), 471–473.
- Schmidt, D., Breymann, C., Weber, A., Guenter, C. I., Neuenschwander, S., Zund, G., ... Hoerstrup, S. P. (2004). Umbilical cord blood derived endothelial progenitor cells for tissue engineering of vascular grafts. *The Annals of Thoracic Surgery*, 78(6), 2094–8. <http://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2004.06.052>
- Schmidt, D. & Hoerstrup, S. P. (2009). *Strategies in Regenerative Medicine*. (M. Santin, Ed.). New York, NY: Springer New York. <http://doi.org/10.1007/978-0-387-74660-9>
- Schoen, F. J. (2005). Cardiac valves and valvular pathology: update on function, disease, repair, and replacement. *Cardiovascular Pathology: The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, 14(4), 189–94. <http://doi.org/10.1016/j.carpath.2005.03.005>
- Schoen, F. J. (2008). Evolving concepts of cardiac valve dynamics: the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering. *Circulation*, 118(18), 1864–80. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.805911>
- Schuldiner, M., Eiges, R., Eden, A., Yanuka, O., Itskovitz-Eldor, J., Goldstein, R. S., & Benvenisty, N. (2001). Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. *Brain Research*, 913(2), 201–5.
- Schultheiss, D., Bloom, D. a, Wefer, J. & Jonas, U. (2000). Tissue engineering from Adam to the zygote: historical reflections. *World Journal of Urology*, 18(1), 84–90.

- Schumacher, J. M., Ellias, S. A., Palmer, E. P., Kott, H. S., Dinsmore, J., Dempsey, P. K., ... Isacson, O. (2000). Transplantation of embryonic porcine mesencephalic tissue in patients with PD. *Neurology*, 54(5), 1042–50.
- Seidel, J. O., Pei, M., Gray, M. L., Langer, R., Freed, L. E. & Vunjak-Novakovic, G. (2004). Long-term culture of tissue engineered cartilage in a perfused chamber with mechanical stimulation. *Biorheology*, 41(3-4), 445–58.
- Seif-Naraghi, S. B. & Christman, K. L. (2013). Chapter 3 – *Tissue Engineering and the Role of Biomaterial Scaffolds: The Evolution of Cardiac Tissue Engineering*. In Resident Stem Cells and Regenerative Therapy (pp. 43–67). Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-416012-5.00003-7>
- Shachar, M. & Cohen, S. (2003). Cardiac tissue engineering, ex-vivo: design principles in biomaterials and bioreactors. *Heart Failure Reviews*, 8(3), 271–6.
- Shahini, A., Yazdimamaghani, M., Walker, K. J., Eastman, M. a, Hatami-Marbini, H., Smith, B. J., ... Tayebi, L. (2014). 3D conductive nanocomposite scaffold for bone tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 167–81. <http://doi.org/10.2147/IJN.S54668>
- Shahrokhi, S., Arno, A. & Jeschke, M. G. (2014). The use of dermal substitutes in burn surgery: Acute phase. *Wound Repair and Regeneration*, 22(1), 14–22. <http://doi.org/10.1111/wrr.12119>
- Shakespeare, P. G. (2005). The role of skin substitutes in the treatment of burn injuries. *Clinics in Dermatology*, 23(4), 413–8. <http://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2004.07.015>
- Shalumon, K. T., Anulekha, K. H., Nair, S. V, Nair, S. V, Chennazhi, K. P. & Jayakumar, R. (2011). Sodium alginate/poly(vinyl alcohol)/nano ZnO composite nanofibers for antibacterial wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(3), 247–54. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.04.005>
- Sher, S. E., Hull, B. E., Rosen, S., Church, D., Friedman, L. & Bell, E. (1983). Acceptance of allogeneic fibroblasts in skin equivalent transplants. *Transplantation*, 36(5), 552–7.
- 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. <http://doi.org/10.1098/rsif.2009.0403>
- Shi, W., Nie, D., Jin, G., Chen, W., Xia, L., Wu, X., ... Chen, J. (2012). BDNF blended chitosan scaffolds for human umbilical cord MSC transplants in traumatic brain injury therapy. *Biomaterials*, 33(11), 3119–26. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.009>
- Shin, M., Ishii, O., Sueda, T. & Vacanti, J. P. (2004). Contractile cardiac grafts using a novel nanofibrous mesh. *Biomaterials*, 25(17), 3717–23. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.10.055>
- Shin'oka, T., Matsumura, G., Hibino, N., Naito, Y., Watanabe, M., Konuma, T., ... Kurosawa, H. (2005). Midterm clinical result of tissue-engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 129(6), 1330–8. <http://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2004.12.047>
- Shire Regenerative Medicine, I. (2013). *Dermagraft Composition*.
- Siepe, M. & Akhyari, P. (2008). Stem cells used for cardiovascular tissue engineering. ... *Journal of Cardio- ...*, 34(2), 242–7. <http://doi.org/10.1016/j.ejcts.2008.03.067>
- Sill, T. J. & von Recum, H. A. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29(13), 1989–2006. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.01.011>

- 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. <http://doi.org/10.1053/j.jfas.2005.10.005>
- Simon, J. L., Roy, T. D., Parsons, J. R., Rekow, E. D., Thompson, V. P., Kemnitzer, J., ... JL, R. (2003). Engineered cellular response to scaffold architecture in a rabbit trephine defect. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 66(2), 275–282. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.10569>
- Singelyn, J. M. & Christman, K. L. (2010). Injectable materials for the treatment of myocardial infarction and heart failure: the promise of decellularized matrices. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 3(5), 478–86. <http://doi.org/10.1007/s12265-010-9202-x>
- Singh, M., Kasper, F. K. & Mikos, A. G. (2008). *Chapter II.6.3 – Tissue Engineering Scaffolds. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* (Third Edit). Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00110-8>
- Slaughter, B. V., Khurshid, S. S., Fisher, O. Z., Khademhosseini, A. & Peppas, N. A. (2009). Hydrogels in regenerative medicine. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, 21(32-33), 3307–29. <http://doi.org/10.1002/adma.200802106>
- Smith, A. G. (1991). Culture and differentiation of embryonic stem cells. *Journal of Tissue Culture Methods*, 13(2), 89–94. <http://doi.org/10.1007/BF01666137>
- Snell, R. S. (2007). *Neuroanatomía clínica*. Ed. Médica Panamericana.
- Society for biomaterials (2008). *Biomaterial of the Month*. Alginates.
- Soria, J. (2009). Uso de biomateriales en medicina regenerativa , aspectos básicos y aplicaciones en el Sistema Nervioso. *Use of biomaterials in regenerative medicine , basic aspects and applications in the Nervous System*, 20, 15–22.
- Soria, J., Soria JM, Barcia González J, JA, A., Romero J, M, M. P. & JM, G. V. (2009). Uso de biomateriales en medicina regenerativa , aspectos básicos y aplicaciones en el Sistema Nervioso. *Use of biomaterials in regenerative medicine , basic aspects and applications in the Nervous System*, 20, 15–22.
- Source, W. (2008). *E-Z Derm*.
- Spalazzi, J. P., Dionisio, K. L. & Lu, H. H. (2003). Osteoblast and chondrocyte interactions during coculture on scaffolds - Examining matrix and substrate-dependent effects on the formation of functional bone-cartilage interfaces. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, 22(5), 27–34. <http://doi.org/10.1109/MEMB.2003.1256269>
- Sreerekha, P. R. & Krishnan, L. K. (2006). Cultivation of endothelial progenitor cells on fibrin matrix and layering on dacron/polytetrafluoroethylene vascular grafts. *Artificial Organs*, 30(4), 242–9. <http://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2006.00211.x>
- Stark, H.-J., Willhauck, M. J., Mirancea, N., Boehnke, K., Nord, I., Breitzkreutz, D., ... Fusenig, N. E. (2004). Authentic fibroblast matrix in dermal equivalents normalises epidermal histogenesis and dermo-epidermal junction in organotypic co-culture. *European Journal of Cell Biology*, 83(11), 631–645.
- Stegemann, J. P., Kaszuba, S. N. & Rowe, S. L. (2007). Review: advances in vascular tissue engineering using protein-based biomaterials. *Tissue Engineering*, 13(11), 2601–13. <http://doi.org/10.1089/ten.2007.0196>

- Steinhoff, G., Stock, U., Karim, N., Mertsching, H., Timke, A., Meliss, R. R., ... Bader, A. (2000). Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits: in vivo restoration of valve tissue. *Circulation*, 102(19 Suppl 3), III50–5.
- Stern, R., Asari, A. A. & Sugahara, K. N. (2006). Hyaluronan fragments: an information-rich system. *European Journal of Cell Biology*, 85(8), 699–715. <http://doi.org/10.1016/j.ejcb.2006.05.009>
- Subramanian, A., Krishnan, U. M., & Sethuraman, S. (2009). Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration. *Journal of Biomedical Science*, 16, 108. <http://doi.org/10.1186/1423-0127-16-108>
- Sul, Y.-T., Johansson, C. B., Petronis, S., Krozer, A., Jeong, Y., Wennerberg, A., & Albrektsson, T. (2002). Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. *Biomaterials*, 23(2), 491–501. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11761170>
- Sun, L., Li, D., Hemraz, U. D., Fenniri, H., & Webster, T. J. (2013). Self-assembled rosette nanotubes and poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels promote skin cell functions. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.35008>
- Sun, L., Webster, T. J., Hemraz, U. D., & Fenniri, H. (2013). Enhanced Skin Cell Functions on Bioactive Rosette Nanotube Composites. In 2013 39th Annual Northeast Bioengineering Conference (pp. 35–36). IEEE. <http://doi.org/10.1109/NEBEC.2013.91>
- Sundback, C. A., Shyu, J. Y., Wang, Y., Faquin, W. C., Langer, R. S., Vacanti, J. P., & Hadlock, T. A. (2005). Biocompatibility analysis of poly(glycerol sebacate) as a nerve guide material. *Biomaterials*, 26(27), 5454–5464.
- Supp, D. M., & Boyce, S. T. (2005). Engineered skin substitutes: practices and potentials. *Clinics in Dermatology*, 23(4), 403–12. <http://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2004.07.023>
- Surgical, C. (2012). Permacol™ Surgical Implant.
- Systemic Enzymes: Fibrin. (2013).
- Tabesh, H., Amoabediny, G., N Salehi, N., Heydari, M., Yosefifard, M., Siadat, S. O. R., & Mottaghy, K. (2009). The role of biodegradable engineered scaffolds seeded with Schwann cells for spinal cord regeneration. *Neurochemistry International*, 54(2), 73–83. <http://doi.org/10.1016/j.neuint.2008.11.002>
- Tandon, V., Zhang, B., Radisic, M., & Murthy, S. K. (2013). Generation of tissue constructs for cardiovascular regenerative medicine: from cell procurement to scaffold design. *Biotechnology Advances*, 31(5), 722–35. <http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.08.006>
- Teng, M., Zhao, X., & Huang, Y. (2012). Regenerating cardiac cells: insights from the bench and the clinic. *Cell and Tissue Research*, 350(2), 189–97. <http://doi.org/10.1007/s00441-012-1484-7>
- Teumer, J., HardinYoung, J., & Parenteau, N. (1998). Tissue Engineered Skin. In *Frontiers in Tissue Engineering* (pp. 664 – 677).
- Thakare, V. (2012). Progress in Synthesis and Applications of Zirconia. *International Journal of Engineering Research and Development*, 5(1), 25–28.
- Thamaraiselvi, T. V. & Rajeswari, S. (2004). Biological Evaluation of Bioceramic Materials - A Review. *Trends Biomat. Artif. Organs*, 18(1), 9–17.
- Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., &

- Jones, J. M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5391), 1145–7.
- Thomson, J. A., Kalishman, J., Golos, T. G., Durning, M., Harris, C. P., Becker, R. A., & Hearn, J. P. (1995). Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(17), 7844–8.
- Thomson, J., Marshall, V. S., & Trojanowski, J. (1998). Neural differentiation of rhesus embryonic stem cells. *APMIS*, 106(1-6), 149–157. <http://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1998.tb01330.x>
- Torres, A. L., Gaspar, V. M., Serra, I. R., Diogo, G. S., Fradique, R., Silva, A. P., & Correia, I. J. (2013). Bioactive polymeric–ceramic hybrid 3D scaffold for application in bone tissue regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, 33(7), 4460–4469.
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2013). *Principios de anatomía y fisiología*. Editorial Medica Panamericana.
- Trounson, A. (2006). The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocrine Reviews*, 27(2), 208–19. <http://doi.org/10.1210/er.2005-0016>
- Troy, J., Karlinski, R., Downes, K., Brown, K. S., Cruse, C. W., Smith, D. J., & Payne, W. G. (2013). The Use of EZ Derm® in Partial-Thickness Burns: An Institutional Review of 157 Patients. *Eplasty*, 13, e14.
- Tulloch, N. L., & Murry, C. E. (2013). Trends in cardiovascular engineering: organizing the human heart. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 23(8), 282–6. <http://doi.org/10.1016/j.tcm.2013.04.001>
- Ueda, M. (2011). *Applied Tissue Engineering*. (D. Minoru, Ed.). InTech. <http://doi.org/10.5772/2630>
- Ulery, B. D., Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2011). Biomedical Applications of Biodegradable Polymers. *Journal of Polymer Science. Part B, Polymer Physics*, 49(12), 832–864. <http://doi.org/10.1002/polb.22259>
- Ullman, E. (1902). Experimentelle Nierentransplantation. *Wien Klin Wochenschr*, 15, 281–282.
- Vacanti, C. A. (2006). The history of tissue engineering. *J. Cell. Mol. Med.*, 10(3), 569–576.
- van Blitterswijk, C. (2008). *Tissue Engineering*.
- Van Blitterswijk, C., Thomsen, P., Lindahl, A., Hubbell, J., Williams, D., Cancedda, R., ... Sohier, J. (2008). *Tissue Engineering*. Elsevier.
- Van de Velde, K., & Kiekens, P. (2002). Biopolymers: overview of several properties and consequences on their applications. *Polymer Testing*, 21(4), 433–442. [http://doi.org/10.1016/S0142-9418\(01\)00107-6](http://doi.org/10.1016/S0142-9418(01)00107-6)
- van Dorp, A. G., Verhoeven, M. C., Koerten, H. K., van Blitterswijk, C. A., & Ponc, M. (1999). Bilayered biodegradable poly(ethylene glycol)/poly(butylene terephthalate) copolymer (Polyactive) as substrate for human fibroblasts and keratinocytes. *Journal of Biomedical Materials Research*, 47(3), 292–300.
- van Winterswijk, P. J., & Nout, E. (2007). Tissue Engineering and Wound Healing: An overview of the past, present, and future. *Wounds – a Compendium of Clinical Research and Practice*, 19(10), 277–284.
- Vanscheidt, W., Ukat, A., Horak, V., Brüning, H., Hunyadi, J., Pavlicek, R., ... Eberhardt, R. (2007). Treatment of recalcitrant venous leg ulcers with autologous keratinocytes in fibrin sealant: a multinational randomized controlled clinical trial. *Wound Repair and Regeneration*. *Offi-*

- cial Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 15(3), 308–15. <http://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00231.x>
- Venkatraman, S., Boey, F. & Lao, L. L. (2008). Implanted cardiovascular polymers: Natural, synthetic and bio-inspired. *Progress in Polymer Science*, 33(9), 853–874. <http://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.001>
- Venstrom, K. & Reichardt, L. (1993). Extracellular matrix. 2: Role of extracellular matrix molecules and their receptors in the nervous system. *FASEB J*, 7(11), 996–1003.
- Ventura, C., Cantoni, S., Bianchi, F., Lionetti, V., Cavallini, C., Scarlata, I., ... Perbellini, A. (2007). Hyaluronan mixed esters of butyric and retinoic Acid drive cardiac and endothelial fate in term placenta human mesenchymal stem cells and enhance cardiac repair in infarcted rat hearts. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(19), 14243–52. <http://doi.org/10.1074/jbc.M609350200>
- Venugopal, J. & Ramakrishna, S. (2005). Biocompatible nanofiber matrices for the engineering of a dermal substitute for skin regeneration. *Tissue Engineering*, 11(5-6), 847–54. <http://doi.org/10.1089/ten.2005.11.847>
- Violas, P., Abid, A., Darodes, P., Galinier, P., de Gauzy, J. S. & Cahuzac, J.-P. (2005). Integra artificial skin in the management of severe tissue defects, including bone exposure, in injured children. *Journal of Pediatric Orthopedics. Part B*, 14(5), 381–4.
- Virchow, R. (1858). *Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre*. Berlin.
- Vogel, V. & Sheetz, M. (2006). Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 7(4), 265–75. <http://doi.org/10.1038/nrm1890>
- Vunjak-Novakovic, G. (2003). The fundamentals of tissue engineering: scaffolds and bioreactors. *Novartis Foundation Symposium*, 249, 34–46; discussion 46–51, 170–4, 239–41.
- Vunjak-Novakovic, G., Obradovic, B., Martin, I. & Freed, L. E. (2002). Bioreactor studies of native and tissue engineered cartilage. *Biorheology*, 39(1-2), 259–68.
- Wadman, M. (2007). Dolly: a decade on. *Nature*, 445, 800–801.
- Wang, F. & Guan, J. (2010). Cellular cardiomyoplasty and cardiac tissue engineering for myocardial therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(7-8), 784–97. <http://doi.org/10.1016/j.addr.2010.03.001>
- Wang, M. (2007). *Surface Modification of Biomaterials and Tissue Engineering Scaffolds for Enhanced Osteoconductivity*. In F. Ibrahim, N. A. A. Osman, J. Usman, & N. A. Kadri (Eds.), 3rd Kuala Lumpur International Conference on Biomedical Engineering 2006, 15, 22–27). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/978-3-540-68017-8>
- Wang, M., Hench, L. L. & Bonfield, W. (1998). Bioglass/high density polyethylene composite for soft tissue applications: preparation and evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research*, 42(4), 577–86. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9827682>
- Weeks, S., Kulkarni, A., Smith, H., Whittall, C., Yang, Y., & Middleton, J. (2012). The effects of chemokine, adhesion and extracellular matrix molecules on binding of mesenchymal stromal cells to poly(l-lactic acid). *Cytotherapy*, 14(9), 1080–1088.
- Weinberg, C. & Bell, E. (1986). A blood vessel model constructed from collagen and cultured vascular cells. *Science*, 231(4736), 397–400. <http://doi.org/10.1126/science.2934816>

- Weiss, L. N.-S. and A. (2011). Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials. (D. Eberli, Ed.). InTech. <http://doi.org/10.5772/837>
- Westermarck, S., Juppo, A. M., Lasse Kervinen, & Yliruusi, J. (1998). Pore structure and surface area of mannitol powder, granules and tablets determined with mercury porosimetry and nitrogen adsorption. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 46, 61–68.
- Weymann, A., Loganathan, S., Takahashi, H., Schies, C., Claus, B., Hirschberg, K., ... Szabó, G. (2011). Development and evaluation of a perfusion decellularization porcine heart model--generation of 3-dimensional myocardial neoscaffolds. *Circ J*, 75(4), 852–860.
- Whang, K., Thomas, C. H., Healy, K. E., & Nuber, G. (1995). A novel method to fabricate bioabsorbable scaffolds. *Polymer*, 36(4), 837–842. [http://doi.org/10.1016/0032-3861\(95\)93115-3](http://doi.org/10.1016/0032-3861(95)93115-3)
- Wilkins, L. M., Watson, S. R., Prosky, S. J., Meunier, S. F., & Parenteau, N. L. (1994). Development of a bilayered living skin construct for clinical applications. *Biotechnology and Bioengineering*, 43(8), 747–56. <http://doi.org/10.1002/bit.260430809>
- Willerth, S. & Sakiyama-Elbert, S. (2008). Approaches to Neural Tissue Engineering Using Scaffolds for Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 59, 325–338.
- Williams, I. R. & Kupper, T. S. (1996). Immunity at the surface: homeostatic mechanisms of the skin immune system. *Life Sciences*, 58(18), 1485–507.
- Williams, S. F. & Martin, D. P. (1996). Applications of PHAs in Medicine and Pharmacy. *Biopolymers Online*, 1–38. <http://doi.org/10.1002/3527600035.bpol4004>
- Winston, F. K., Macarak, E. J., Gorfien, S. F., & Thibault, L. E. (1989). A system to reproduce and quantify the biomechanical environment of the cell. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 67(1), 397–405.
- Witkowski, J. A. (1979). Alexis Carrel and the mysticism of tissue culture. *J Med Hist*, 23, 279–296.
- Woerly, S., Pinet, E., De Robertis, L., Bousmina, M., Laroche, G., Roitback, T., ... Syková, E. (1998). Heterogeneous PHPMA hydrogels for tissue repair and axonal regeneration in the injured spinal cord. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, 9(7), 681–711.
- Wojtowicz, A. M., Shekaran, A., Oest, M. E., Dupont, K. M., Templeman, K. L., Hutmacher, D. W., ... García, A. J. (2010). Coating of biomaterial scaffolds with the collagen-mimetic peptide GFOGER for bone defect repair. *Biomaterials*, 31(9), 2574–82. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.12.008>
- Wong, J. Y. & Bronzino, J. D. (2007). *Biomaterials*. CRC Press.
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.burns.2006.01.008>
- Wood, F. M., Stoner, M. L., Fowler, B. V., & Fear, M. W. (2007). The use of a non-cultured autologous cell suspension and Integra dermal regeneration template to repair full-thickness skin wounds in a porcine model: a one-step process. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 33(6), 693–700. <http://doi.org/10.1016/j.burns.2006.10.388>
- Woodcock, E. A. & Matkovich, S. J. (2005). Cardiomyocytes structure, function and associated pathologies. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37(9), 1746–51. <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.04.011>
- Woźniak, P., Bil, M., Ryszkowska, J., Wychowański, P., Wróbel, E., Ratajska, A., ... Lewandows-

- ka-Szumieł, M. (2010). Candidate bone-tissue-engineered product based on human-bone-derived cells and polyurethane scaffold. *Acta Biomaterialia*, 6(7), 2484–93. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.10.022>
- Wu, K. H., Mo, X. M., Liu, Y. L., Zhang, Y. S. & Han, Z. C. (2007). Stem cells for tissue engineering of myocardial constructs. *Ageing Research Reviews*, 6(4), 289–301. <http://doi.org/10.1016/j.arr.2007.08.003>
- Wu, K., Liu, Y. L., Cui, B. & Han, Z. (2006). Application of stem cells for cardiovascular grafts tissue engineering. *Transplant Immunology*, 16(1), 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.trim.2006.03.004>
- Wu, Y., Xu, B., Yang, Q., Li, X., Zhang, Y., Ma, X., ... Zhang, Y. (2013). A novel natural ECM-derived biphasic scaffold for intervertebral disc tissue engineering. *Materials Letters*, 105.
- Xiao, y. -l., Riesle, J. & Blitterswijk, C. A. Van. (1999). Static and dynamic fibroblast seeding and cultivation in porous PEO/PBT scaffolds. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 10(12), 773–777. <http://doi.org/10.1023/A:1008946832443>
- Xie, J., MacEwan, M., Li, X., Sakiyama-Elbert, S. & Xia, Y. (2010). Neurite Outgrowth on Nanofiber Scaffolds with Different Orders, Structures, and Surface. *Properties*, 3(5), 1151–1159. <http://doi.org/10.1021/nn900070z.Neurite>
- Xiong, Y., Zeng, Y.-S., Zeng, C.-G., Du, B.-L., He, L.-M., Quan, D.-P., ... Li, J. (2009). Synaptic transmission of neural stem cells seeded in 3-dimensional PLGA scaffolds. *Biomaterials*, 30(22), 3711–22. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.03.046>
- Xu, Y., Petrovic, Z., Das, S. & Wilkes, G. L. (2008). Morphology and properties of thermoplastic polyurethanes with dangling chains in ricinoleate-based soft segments. *Polymer*, 49(19), 4248–4258. <http://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.07.027>
- Yan, Y., Xiong, Z., Hu, Y., Wang, S., Zhang, R. & Zhang, C. (2003). Layered manufacturing of tissue engineering scaffolds via multi-nozzle deposition. *Materials Letters*, 57.
- Yang, S., Leong, K. F., Du, Z. & Chua, C. K. (2001). The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Engineering*, 7(6), 679–89. <http://doi.org/10.1089/107632701753337645>
- Yao, L., Wang, S., Cui, W., Sherlock, R., O'Connell, C., Damodaran, G., ... Pandit, A. (2009). Effect of functionalized micropatterned PLGA on guided neurite growth. *Acta Biomaterialia*, 5(2), 580–8. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.002>
- Yee Shuan, L. & Livingston Arinzeh, T. (2011). Electrospun nanofibrous materials for neural tissue engineering. *Polymers*, 3(4), 413–426. <http://doi.org/10.3390/polym3010413>
- Yee-Shuan Lee and Treena Livingston Arinzeh. (2008). Electrospun micro- and nanofiber tubes for functional nervous regeneration in sciatic nerve transections. *BMC Biotechnology*, 8, 39. <http://doi.org/10.1186/1472-6750-8-39>
- Yee-Shuan Lee and Treena Livingston Arinzeh, Panseri, S., Cunha, C., Lowery, J., Carro, U. Del, Taraballi, F., ... Gelain, F. (2008). Electrospun micro- and nanofiber tubes for functional nervous regeneration in sciatic nerve transections. *BMC Biotechnology*, 8, 39. <http://doi.org/10.1186/1472-6750-8-39>
- Yu, L. M. Y., Leipzig, N. D. & Shoichet, M. S. (2008). Promoting neuron adhesion and growth. *Materials Today*, 11(5), 36–43.
- Zhang, S. (2003). Fabrication of novel biomaterials through molecular self-assembly. *Nature Biotechnology*, 21(10), 1171–8. <http://doi.org/10.1038/nbt874>

- Zhu, N., Warner, R. M., Simpson, C., Glover, M., Hernon, C. A., Kelly, J., ... MacNeil, S. (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. <http://doi.org/10.1007/s00238-005-0777-4>
- Zimmermann, W. H., Melnychenko, I. & Eschenhagen, T. (2004). Engineered heart tissue for regeneration of diseased hearts. *Biomaterials*, 25(9), 1639–47.
- Zimmermann, W.-H., Didié, M., Döker, S., Melnychenko, I., Naito, H., Rogge, C., ... Eschenhagen, T. (2006). Heart muscle engineering: an update on cardiac muscle replacement therapy. *Cardiovascular Research*, 71(3), 419–29. <http://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.03.023>
- Zwaginga, J. J. & Doevendans, P. (2003). Stem cell-derived angiogenic/vasculogenic cells: possible therapies for tissue repair and tissue engineering. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 30(11), 900–8.

Referencias

- Archibald, S. J., Krarup, C., Shefner, J., Li, S. T., & Madison, R. D. (1991). A collagen-based nerve guide conduit for peripheral nerve repair: an electrophysiological study of nerve regeneration in rodents and nonhuman primates. *The Journal of Comparative Neurology*, 306(4), 685–96. doi:10.1002/cne.903060410
- Arias, J., Aller, A. M., Fernandez, E., Ignacio, J., & Lorente, L. (2004). *Propedéutica quirúrgica: preoperatorio, operatorio, postoperatorio* (p. 721). Editorial Tebar.
- Barras, F. M., Pasche, P., Bouche, N., Aebischer, P., & Zurn, A. D. (2002). Glial cell line-derived neurotrophic factor released by synthetic guidance channels promotes facial nerve regeneration in the rat. *Journal of Neuroscience Research*, 70(6), 746–55. doi:10.1002/jnr.10434
- Bellamkonda, R., & Aebischer, P. (1994). Review: Tissue engineering in the nervous system. *Biotechnology and Bioengineering*, 43(7), 543–554. doi:10.1002/bit.260430703
- Cao, H., Liu, T., & Chew, S. Y. (2009). The application of nanofibrous scaffolds in neural tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(12), 1055–64. doi:10.1016/j.addr.2009.07.009
- Chen, C. S., Alonso, J. L., Ostuni, E., Whitesides, G. M., & Ingber, D. E. (2003). Cell shape provides global control of focal adhesion assembly. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 307(2), 355–61.
- Chen, C. S., Mrksich, M., Huang, S., Whitesides, G. M., & Ingber, D. E. (1997). Geometric control of cell life and death. *Science (New York, N.Y.)*, 276(5317), 1425–8.
- Chen, C. S., Tan, J., & Tien, J. (2004). Mechanotransduction at cell-matrix and cell-cell contacts. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 6, 275–302. doi:10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140040
- Chen, W., & Wah Tong, Y. (2012). PHBV microspheres as neural tissue engineering scaffold support neuronal cell growth and axon–dendrite polarization. Retrieved from <http://200.13.235.202:2069/science/article/pii/S1742706111004193>
- Cregg, J. M., Wiseman, S. L., Pietrzak-Goetze, N. M., Smith, M. R., Jaroch, D. B., Clupper, D. C., & Gilbert, R. J. (2010). A rapid, quantitative method for assessing axonal extension on biomaterial platforms. *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 16(2), 167–72. doi:10.1089/ten.TEC.2009.0108
- Duerstock, B. S., & Borgens, R. B. (2002). Three-dimensional morphometry of spinal cord injury following polyethylene glycol treatment. *The Journal of Experimental Biology*, 205(Pt 1), 13–24.
- During, M. J., Freese, A., Sabel, B. A., Saltzman, W. M., Deutch, A., Roth, R. H., & Langer, R. (1989). Controlled release of dopamine from a polymeric brain implant: in vivo characterization. *Annals of Neurology*, 25(4), 351–6. doi:10.1002/ana.410250406
- Elbert, D. L., & Hubbell, J. A. (2001). Conjugate addition reactions combined with free-radical cross-linking for the design of materials for tissue engineering. *Biomacromolecules*, 2(2), 430–41.

- Elias, P. Z., & Spector, M. (2012). Implantation of a collagen scaffold seeded with adult rat hippocampal progenitors in a rat model of penetrating brain injury. *Journal of Neuroscience Methods*, 209(1), 199–211. doi:10.1016/j.jneumeth.2012.06.003
- Erkizia, G., Rainer, a, De Juan-Pardo, E. M., & Aldazabal, J. (2010). Computer Simulation of Scaffold Degradation. *Journal of Physics: Conference Series*, 252, 012004. doi:10.1088/1742-6596/252/1/012004
- Escuela de medicina universidad católica de Chile. (2001). Células de sostén.
- Fawcett, J. W., & Asher, R. a. (1999). The glial scar and central nervous system repair. *Brain Research Bulletin*, 49(6), 377–91.
- Fenexy. (2012). Investigación en lesiones medulares. Retrieved October 31, 2013, from http://www.fenexy.org/investigacion_lm
- Fine, E. G., Decosterd, I., Papaloizos, M., Zurn, A. D., & Aebischer, P. (2002). GDNF and NGF released by synthetic guidance channels support sciatic nerve regeneration across a long gap. *The European Journal of Neuroscience*, 15(4), 589–601.
- Flynn, L., Dalton, P. D., & Shoichet, M. S. (2003). Fiber templating of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) for neural tissue engineering. *Biomaterials*, 24(23), 4265–72.
- Furnish, E., & Schmidt, C. (1998). *Tissue Engineering of the Peripheral Nervous System*.
- Gómez Nicola, D., & Nieto Sampedro, M. (2008). Glía reactiva. *Mente Y Cerebro*. Prensa Científica.
- Guo, J., Leung, K. K. G., Su, H., Yuan, Q., Wang, L., Chu, T.-H., ... Wu, W. (2009). Self-assembling peptide nanofiber scaffold promotes the reconstruction of acutely injured brain. *Nanomedicine : Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 5(3), 345–51. doi:10.1016/j.nano.2008.12.001
- Hopkins, J., & Johnson, S. (1993). *Human Biology and Health* (pp. 132 – 144). Englewood Cliffs, New Jersey, USA: Prentice Hall.
- Innovation & creativity development. (2011). *La Neurona*.
- Jha, B. S., Colello, R. J., Bowman, J. R., Sell, S. a, Lee, K. D., Bigbee, J. W., ... Simpson, D. G. (2011). Two pole air gap electrospinning: Fabrication of highly aligned, three-dimensional scaffolds for nerve reconstruction. *Acta Biomaterialia*, 7(1), 203–15. doi:10.1016/j.actbio.2010.08.004
- Khademhosseini, A., & Langer, R. (2007). Microengineered hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*, 28(34), 5087–92. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.07.021
- Ladd, M. R., Hill, T. K., Yoo, J. J., & Lee, S. J. (2008). *Electrospun Nanofibers in Tissue Engineering*.
- LeBaron, R. G., & Athanasiou, K. A. (2000). Extracellular matrix cell adhesion peptides: functional applications in orthopedic materials. *Tissue Engineering*, 6(2), 85–103. doi:10.1089/107632700320720
- Lee, Y.-S., & Livingston Arinzeh, T. (2011). Electrospun Nanofibrous Materials for Neural Tissue Engineering. *Polymers*, 3(4), 413–426. doi:10.3390/polym3010413
- Leipzig, N. D., Wylie, R. G., Kim, H., & Shoichet, M. S. (2011). Differentiation of neural stem cells in three-dimensional growth factor-immobilized chitosan hydrogel scaffolds. *Biomaterials*, 32(1), 57–64. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.09.031
- Lu, L., Yaszemski, M. J., Jain, A., Kim, Y.-T., McKeon, R. J., & Bellamkonda, R. V. (2006). In situ gelling hydrogels for conformal repair of spinal cord defects, and local delivery of BDNF after spinal cord injury. *Biomaterials*, 27(3), 497–504.

- Madigan, N. N., McMahon, S., O'Brien, T., Yaszemski, M. J., & Windebank, A. J. (2009). Current tissue engineering and novel therapeutic approaches to axonal regeneration following spinal cord injury using polymer scaffolds. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 169(2), 183–99. doi:10.1016/j.resp.2009.08.015
- Nisbet, D. R., Rodda, A. E., Horne, M. K., Forsythe, J. S., & Finkelstein, D. I. (2009). Neurite infiltration and cellular response to electrospun polycaprolactone scaffolds implanted into the brain. *Biomaterials*, 30(27), 4573–80. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.05.011
- Ortinou, S., Schmich, J., Block, S., Liedmann, A., Jonas, L., Weiss, D. G., ... Frech, M. J. (2010). Effect of 3D-scaffold formation on differentiation and survival in human neural progenitor cells. *Biomedical Engineering Online*, 9, 70. doi:10.1186/1475-925X-9-70
- Panseri, S., Cunha, C., Lowery, J., Carro, U. Del, Taraballi, F., Amadio, S., ... Gelain, F. (2008). Electrospun micro- and nanofiber tubes for functional nervous regeneration in sciatic nerve transections. *BMC Biotechnology*, 8, 39. doi:10.1186/1472-6750-8-39
- Pettikiriarachchi, J. T. S., Parish, C. L., Shoichet, M. S., Forsythe, J. S., & Nisbet, D. R. (2010). Biomaterials for Brain Tissue Engineering. *Australian Journal of Chemistry*, 63(8), 1143. doi:10.1071/CH10159
- Piantino, J., Burdick, J. A., Goldberg, D., Langer, R., & Benowitz, L. I. (2006). An injectable, biodegradable hydrogel for trophic factor delivery enhances axonal rewiring and improves performance after spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 201(2), 359–67. doi:10.1016/j.expneurol.2006.04.020
- Rao, S. S., & Winter, J. O. (2009). Adhesion molecule-modified biomaterials for neural tissue engineering. *Frontiers in Neuroengineering*, 2(June), 6. doi:10.3389/neuro.16.006.2009
- Saltzman, W. M., Mak, M. W., Mahoney, M. J., Duenas, E. T., & Cleland, J. L. (1999). Intracranial delivery of recombinant nerve growth factor: release kinetics and protein distribution for three delivery systems. *Pharmaceutical Research*, 16(2), 232–40.
- Shi, W., Nie, D., Jin, G., Chen, W., Xia, L., Wu, X., ... Chen, J. (2012). BDNF blended chitosan scaffolds for human umbilical cord MSC transplants in traumatic brain injury therapy. *Biomaterials*, 33(11), 3119–26. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.01.009
- Sill, T. J., & von Recum, H. a. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29(13), 1989–2006. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.01.011
- Snell, R. S. (2007). *Neuroanatomía clínica* (p. 592). Ed. Médica Panamericana.
- Soria, J. (2009). *Uso de biomateriales en medicina regenerativa , aspectos básicos y aplicaciones en el Sistema Nervioso* Use of biomaterials in regenerative medicine , basic aspects and applications in the Nervous System, 20, 15–22.
- Soria JM, Barcia González J, JA, A., Romero J, M, M. P., & JM, G. V. (2009). *Uso de biomateriales en medicina regenerativa , aspectos básicos y aplicaciones en el Sistema Nervioso* Use of biomaterials in regenerative medicine , basic aspects and applications in the Nervous System, 20, 15–22.
- Subramanian, A., Krishnan, U. M., & Sethuraman, S. (2009). Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration. *Journal of Biomedical Science*, 16, 108. doi:10.1186/1423-0127-16-108

- Sundback, C. A., Shyu, J. Y., Wang, Y., Faquin, W. C., Langer, R. S., Vacanti, J. P., & Hadlock, T. A. (2005). Biocompatibility analysis of poly(glycerol sebacate) as a nerve guide material. *Biomaterials*, 26(27), 5454–5464. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961205001547>
- Tabesh, H., Amoabediny, G., N Salehi, N., Heydari, M., Yosefifard, M., Siadat, S. O. R., & Mottaghy, K. (2009). The role of biodegradable engineered scaffolds seeded with Schwann cells for spinal cord regeneration. *Neurochemistry International*, 54(2), 73–83. doi:10.1016/j.neuint.2008.11.002
- Venstrom, K., & Reichardt, L. (1993). Extracellular matrix. 2: Role of extracellular matrix molecules and their receptors in the nervous system. *FASEB J*, 7(11), 996–1003.
- Willerth, S., & Sakiyama-Elbert, S. (2008). Approaches to Neural Tissue Engineering Using Scaffolds for Drug Delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 59, 325–338.
- Woerly, S., Pinet, E., De Robertis, L., Bousmina, M., Laroche, G., Roitback, T., ... Syková, E. (1998). Heterogeneous PHPMA hydrogels for tissue repair and axonal regeneration in the injured spinal cord. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, 9(7), 681–711.
- Xie, J., MacEwan, M., Li, X., Sakiyama-Elbert, S., & Xia, Y. (2010). Neurite Outgrowth on Nanofiber Scaffolds with Different Orders, Structures, and Surface Properties, 3(5), 1151–1159. doi:10.1021/nn900070z.Neurite
- Xiong, Y., Zeng, Y.-S., Zeng, C.-G., Du, B.-L., He, L.-M., Quan, D.-P., ... Li, J. (2009). Synaptic transmission of neural stem cells seeded in 3-dimensional PLGA scaffolds. *Biomaterials*, 30(22), 3711–22. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.03.046
- Xu, Y., Petrovic, Z., Das, S., & Wilkes, G. L. (2008). Morphology and properties of thermoplastic polyurethanes with dangling chains in ricinoleate-based soft segments. *Polymer*, 49(19), 4248–4258. doi:10.1016/j.polymer.2008.07.027
- Yao, L., Wang, S., Cui, W., Sherlock, R., O'Connell, C., Damodaran, G., ... Pandit, A. (2009). Effect of functionalized micropatterned PLGA on guided neurite growth. *Acta Biomaterialia*, 5(2), 580–8. doi:10.1016/j.actbio.2008.09.002
- Yee Shuan, L., & Livingston Arinzeh, T. (2011). Electrospun nanofibrous materials for neural tissue engineering. *Polymers*, 3(4), 413–426. doi:10.3390/polym3010413
- Yee-Shuan Lee and Treena Livingston Arinzeh. (2008). Electrospun micro- and nanofiber tubes for functional nervous regeneration in sciatic nerve transections. *BMC Biotechnology*, 8, 39. doi:10.1186/1472-6750-8-39
- Yu, L. M. Y., Leipzig, N. D., & Shoichet, M. S. (2008). Promoting neuron adhesion and growth. *Materials Today*, 11(5), 36–43.

Sebastián Roldán Vasco, MSc.

Bioingeniero con Maestría en Ingeniería de la Universidad de Antioquia, enfocada a señales y sistemas biomédicos. Docente e investigador en el Grupo de Investigación en Materiales Avanzados y Energía (MATyER) del Instituto Tecnológico Metropolitano (Medellín). Experiencia laboral en el sector privado hospitalario, específicamente en ingeniería clínica. Sus áreas de investigación son procesamiento de señales biomédicas, bioinstrumentación e ingeniería clínica.

Carlos Andrés Vargas Isaza, MSc.

Ingeniero Mecánico de la Universidad Pontificia Bolivariana, con Especialización en procesos de transformación de plástico y caucho, así como Maestría en Ingeniería de la Universidad EAFIT, enfocada al procesamiento de polímeros. Docente e investigador en el Grupo de Investigación en Materiales Avanzados y Energía (MATyER) del Instituto Tecnológico Metropolitano (Medellín). Experiencia laboral en el sector del plástico y caucho, así como en desarrollo de proyectos de productividad y competitividad, gestión y calidad de la energía, y simulación de proyectos. Sus áreas de investigación son procesamiento y caracterización de polímeros, ingeniería de materiales y biomateriales.

Mónica Liliana Mejía Suaza

Ingeniera Biomédica del Instituto Tecnológico Metropolitano. Estudiante de Maestría en Ingeniería área Biomédica adscrita al Grupo de investigaciones en bioingeniería de la Universidad Pontificia Bolivariana. Con experiencia como Joven Investigadora de Colciencias y auxiliar de investigación. Sus áreas de investigación son biomateriales, procesamiento y caracterización de materiales poliméricos, ingeniería de tejidos, electrospinning y nanotecnología.

Jennifer Zapata Giraldo

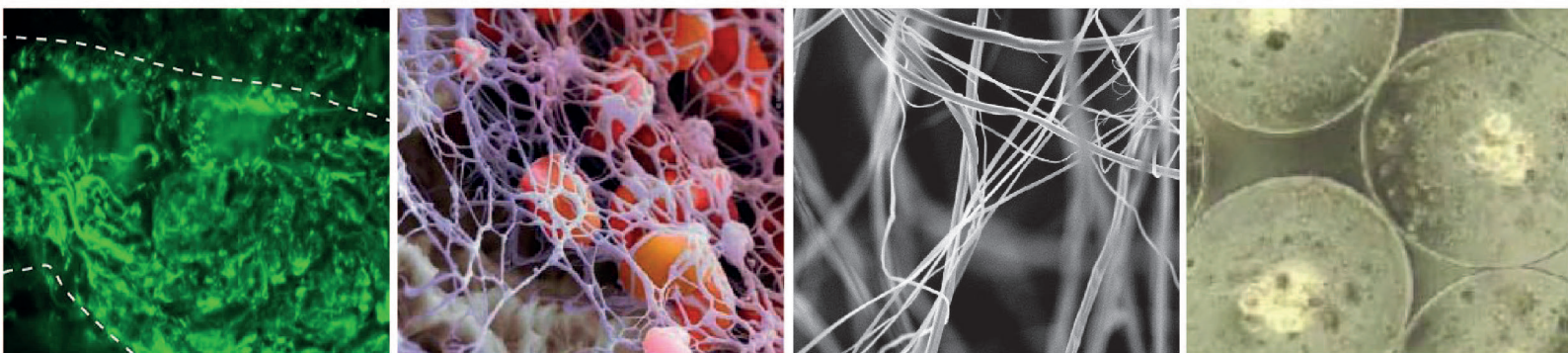
Ingeniera Biomédica del Instituto Tecnológico Metropolitano. Joven Investigadora Colciencias. Estudiante de maestría adscrita al Grupo de investigaciones en Bioingeniería de la Universidad Pontificia Bolivariana (Medellín). Sus áreas de investigación son nanotecnología, microbiología, biomateriales y electromedicina.

María Elena Moncada Acevedo, PhD.

Ingeniera Electricista de la Universidad de Antioquia, con Doctorado en Ingeniería de la Universidad del Valle, enfocado en aplicaciones de electromedicina. Profesor asistente y actualmente coordinadora del Grupo de Investigación en Materiales Avanzados y Energía (MATyER) del Instituto Tecnológico Metropolitano (Medellín). Las áreas de experiencia contemplan desarrollo de modelos computacionales, experimentación in vitro y estudios clínicos. Sus áreas de investigación son bioelectromagnetismo, electromedicina, simulación de fenómenos bioeléctricos mediante elementos finitos e ingeniería de tejidos.



Fuentes tipográficas: Cambria para texto corrido, en 12 puntos,
para títulos en Cambria, en 24 puntos y subtítulos



Ingeniería de tejidos y aplicaciones

La Ingeniería de Tejidos (IT) constituye un área multidisciplinaria que involucra varias ramas del conocimiento, tales como la biología, la medicina, la bioingeniería, la química, entre otras; su fin último es lograr la recuperación de un tejido u órgano con funcionalidad reducida a causa de enfermedades, accidentes u otros factores. La IT llega donde la medicina por sí sola no es suficiente para el mejoramiento de la calidad de vida de pacientes afectados.

El interés del libro *Ingeniería de tejidos y aplicaciones* presenta al lector, familiarizado o no con la aplicación de la ingeniería en problemas biomédicos, una perspectiva analítica recurriendo a fuentes originales, los conceptos básicos de las diferentes estructuras, técnicas y aplicaciones basadas en la ingeniería de tejidos, que se han utilizado en el tratamiento de diversas patologías o afecciones. Asimismo, se profundiza en conceptos como andamios tridimensionales, matrices descelularizadas, biomateriales y tipos de injertos, así como el trasfondo biológico de sus mecanismos de actuación en tejidos cardiovascular, nervioso, de piel y óseo.

Tissue Engineering and Applications.

Tissue Engineering (TE) is a multidisciplinary area that involves many branches of knowledge such as biology, medicine, bioengineering, chemistry, etc. The TE aims to restore the organ or tissue with reduced functionality due to illness, accident or other external factors. The TE overcomes the limitations of the medicine related with improving quality of life in patients.

The goal of the book *Tissue Engineering and Applications* is to show to the expert and inexperienced reader, an analytical perspective of the treatments used for a wide range of diseases, based on well supported evidence in therapeutic techniques and applications of TE reported in scientific literature. This book delves into concepts such as scaffolding, decellularized matrix, biomaterials and implants, as well as the biological support of the actuation mechanisms in cardiovascular, neural, skin and bone tissues.



ISBN: 978-958-8743-84-4



9 789588 743844