

Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: revisión

Ana Cristina Colorado, Carlos Andrés Agudelo, María Elena Moncada A. [¶]

Instituto Tecnológico Metropolitano, ITM. Medellín, Colombia.

Recibido 07 de marzo de 2013. Aprobado 19 de septiembre de 2013.

ANALYSIS OF BIOMATERIALS FOR SKIN TISSUE ENGINEERING: REVIEW

ANÁLISE DE BIOMATERIAIS PARA USO EM ENGENHARIA DE TECIDOS DA PELE: PATCH

Resumen — La ingeniería de tejidos es un área que ha venido creciendo desde los últimos treinta años con diferentes aplicaciones en piel, hueso, tejido neural, tejido cardiovascular, entre otras. Una de las áreas más trabajadas y de mayores aplicaciones es la relacionada con el tejido de la piel, con importantes avances en el desarrollo de sustitutos. En este trabajo se hace una revisión sobre los biomateriales más usados para desarrollos en el área de ingeniería de tejidos con aplicaciones específicas al tejido de piel. La información obtenida fue clasificada de acuerdo a los biomateriales más usados de origen natural o sintético, y de acuerdo a sus aplicaciones como sustitutos dérmicos, epidérmicos o dermo-epidérmicos. A su vez las ventajas y desventajas de su implementación *in vivo* o clínica fueron consideradas. Adicionalmente, se presenta una introducción al uso de los nanomateriales en diferentes áreas relacionadas con la ingeniería de tejidos. Según esta revisión, la biocompatibilidad de los materiales naturales es adecuada, al igual que la recepción al momento del injerto, pero su resistencia mecánica es baja. Los materiales sintéticos, por su parte, presentan más alta resistencia mecánica y siguen siendo objeto de investigación para mejorar su biocompatibilidad y controlar su degradación. Dentro del estudio se presentaron los nanomateriales como un área de amplio desarrollo y de alta proyección para su aplicación en ingeniería tisular.

Palabras Claves— Biomateriales, Nanomateriales, Andamios, Ingeniería de Tejidos, Piel.

Abstract — Tissue engineering is a research field that has grown over the last thirty years with different applications in skin, bone, neural tissue and cardiovascular tissue, among others. One of the most studied and promising application relates to the engineering of skin tissue, which has led to important advances in the development of skin substitutes. This work reviews the most used biomaterials for applications in the field of skin tissue engineering. The reviewed literature was classified according to the most used natural or synthetic biomaterials and according to their application as dermal, epidermal, or dermal-epidermal substitutes. At the same time, advantages and disadvantages of their *in vivo* or clinical implementation were considered. Based on this literature review, the biocompatibility of natural materials is appropriate, as well as their grafting efficiency, but their mechanical strength is low. Synthetic materials, in contrast, show higher mechanical strength and are subject of investigations that seek to improve their biocompatibility and biodegradability. This review also showed that the use of nanomaterials is a very promising research area with excellent prospects for applications in tissue engineering.

Keywords — Biomaterials, Nanomaterials, Scaffolds, Tissue engineering, Skin.

[¶] Dirección para correspondencia: mariamoncada@itm.edu.co

DOI: <http://dx.doi.org/10.14508/rbme.2013.7.14.11-23>

Sumário — Engenharia de tecidos é uma área que tem crescido desde os últimos trinta anos, com diferentes aplicações em pele, osso, tecido neural, tecido cardiovascular, entre outros. Uma das áreas de aplicação mais elaborados e maiores está relacionada com o tecido da pele, com um progresso significativo no desenvolvimento de substitutos. Este trabalho apresenta uma revisão dos biomateriais mais utilizados para desenvolvimentos na área da engenharia de tecidos com aplicações específicas para o tecido da pele. As informações obtidas foram classificadas de acordo aos biomateriais mais utilizados de origem natural ou sintética, e de acordo às suas aplicações como substitutos de pele, epidérmica ou dermo-epidérmica. Por sua vez, as vantagens e desvantagens da sua implementação in vivo ou clínica foram considerados. Além disso uma introdução ao uso de nanomateriais em diferentes áreas relacionadas com a engenharia de tecidos é apresentado. De acordo com esta revisão, a biocompatibilidade de materiais naturais é adequado, como o tempo de recepção da enxertia, mas a sua resistência mecânica é baixa. Os materiais sintéticos, por sua vez, tem alta resistência mecânica e ainda estão sob investigação para melhorar a sua biocompatibilidade e controle de degradação. Dentro deste estudo apresentaram-se os nanomateriais como um área de desenvolvimento global e alta projeção para uso em engenharia de tecidos.

Palavras-chave — Biomateriais; Nanomateriais; Andaime; Engenharia de Tecidos.

I. INTRODUCCIÓN

La ingeniería de tejidos es una rama que ha crecido en los últimos treinta años, con diferentes aplicaciones en piel, hueso, tejido neural, tejido cardiovascular, entre otros [1]. Una de las aplicaciones más trabajadas es la referente a la ingeniería de tejido de piel, con importantes avances en el desarrollo de sustitutos. La piel es un órgano primordial para el ser humano que proporciona protección a toda la complejidad sistémica de la vida humana. Se estima que aproximadamente el 1% de la población mundial puede sufrir de una quemadura seria en algún momento de su vida. En Europa, anualmente se tiene un millón de pacientes a causa de heridas de piel, y en Estados Unidos alrededor de 1,5 millones de personas al año padecen quemaduras [2]. En Suramérica, las causas principales de heridas de piel son los incidentes domésticos, industriales o laborales, derrame de líquidos calientes, llama directa y electricidad [3]. En Antioquia, se presentan múltiples casos de pacientes con quemaduras por manipulación de líquidos calientes y pólvora, y existe una alta incidencia de pacientes con lesiones crónicas y agudas de la piel [4].

En este contexto, y ante el notable aumento de la población mundial, crece cada año la necesidad de implantes biomédicos para reparar tejidos enfermos o perdidos, y los reemplazos convencionales no satisfacen las demandas. A pesar de los nanomateriales estar siendo estudiados hace poco más de una década, sus características biomiméticas y excelentes propiedades fisico-químicas desempeñan un papel clave en la estimulación del crecimiento celular, ya que componentes claves de los tejidos y órganos naturales son de dimensiones nanométricas, permitiendo que las células interactúen directamente con las matrices nanoestructuradas extracelulares [5-6].

En este contexto, y ante el aumento de investigaciones relacionadas con los biomateriales y nanomateriales para el soporte de piel sustituta, este trabajo presenta una revisión de los biomateriales más utilizados o con mayor potencial en ingeniería de tejido de piel, discutiendo

sus ventajas y desventajas con el objetivo de informar el desarrollo de futuras investigaciones. Igualmente se hace un recorrido por las aplicaciones más promisorias de los nanomateriales en la ingeniería de tejidos de piel.

II. GENERALIDADES DE LA PIEL

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano o animal. Su espesor varía entre los 0,5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón). Su peso aproximado es de 5 kg y actúa como barrera protectora que aísla al organismo del medio que lo rodea. Las tres capas principales de la piel, desde la superficie hacia la profundidad son: la epidermis; la dermis y la hipodermis. La piel cumple funciones sensitivas, de comunicación y de reserva para garantizar el buen desempeño del cuerpo humano. Como órgano externo se enfrenta a gran número de estímulos ambientales y debe tener funciones protectoras para la defensa a infecciones por virus, bacterias u hongos. Es encargada también de proteger ante radiaciones y estímulos mecánicos, térmicos y químicos que sean nocivos. La piel presenta una función sensitiva, al contar con receptores sensitivos en su superficie, una función de comunicación y expresión, una función metabólica y de reserva, y un sistema de vigilancia inmunológica de alta complejidad.

III. INGENIERÍA DE TEJIDOS

El término ingeniería de tejidos nació en 1987 [7] y se desarrolló como una alternativa al trasplante tradicional de órganos debido a la escasez o rechazo por parte de los pacientes. La convención fundamental de la ingeniería de tejidos parte de la capacidad del cuerpo humano para curarse a sí mismo, que depende del tipo de enfermedades o heridas, del tejido, el grado de daño, pérdida de la función y el número de tejidos involucrados. El proceso de reparación, sin embargo, se ha mejorado en gran medida gracias a los avances en la tecnología médica [8], en la que se encuentran avances en implantes, prótesis y manipulaciones a nivel celular y molecular.

La ingeniería de tejidos hace énfasis en los tejidos y la terapia basada en células, con enfoques hacia métodos de recolección y expansión de los tejidos vivos *in vitro*, y al diseño de los biomateriales y andamios que proporcionan el soporte estructural adecuado. Cuando un tratamiento médico se centra en la regeneración de los tejidos *in vitro* o *ex vivo*, utilizando métodos de biotecnología, es cuando la cirugía reconstructiva pasa a denominarse ingeniería de tejidos [9]. Sobre los andamios son depositadas las células vivas (que pueden ser genéticamente modificadas), cultivadas en el laboratorio en número suficiente para la posterior implantación, los cuales permiten a los cirujanos manipular el medio ambiente local del tejido y proporcionan una alternativa fisiológica con mejor y más rápida recuperación del cuerpo [8].

Las estrategias en la ingeniería de tejidos pueden ser celulares y acelulares. El tipo celular (*in vitro*) implica previamente la siembra celular sobre andamio que son posteriormente implantados en el tejido lesionado para estimular el crecimiento de nuevo tejido, mientras que el material de soporte en sí es degradado gradualmente y sólo el tejido recién generado permanece funcional. En la estrategia acelular (*in vivo*) se busca el mismo resultado, pero con la diferencia de que el andamio es implantado en la región dañada para estimular la infiltración de células vecinas responsables de la deposición de matriz extracelular (MEC). De esta manera, la regeneración de tejidos puede ser estimulada por moléculas de señalización incorporadas dentro de los andamios para apoyar y controlar el proceso de invasión celular [7].

Uno de los objetivos más importante de esta área es el diseño de los biomateriales como andamios que soporten las células y las moléculas de señalización para la posterior regeneración del tejido. Las investigaciones y desarrollos en esta área han aumentado en los últimos 40 años, dada la urgente necesidad de alternativas de tratamiento a daños o pérdidas de tejidos, al cáncer y a enfermedades degenerativas [8,10].

3.1 Aplicación en piel

Al diseñar una estrategia para la promoción y reparación de la piel a partir de la ingeniería de tejidos, es necesario identificar correctamente las fuentes celulares y los mecanismos de interacción [11]. Las células deben ser suficientemente abundantes y adicionalmente: (a) proporcionar una capa de barrera de queratinocitos renovables, que entregue el agua, los electrolitos y una barrera a prueba de bacterias al mundo exterior; (b) adherirse en forma segura a la dermis, incorporándose a las fibras de colágeno a través de los hemidesmosomas; (c) tener buena vascularización, que es esencial para la rápida reparación de la piel; y (d) proporcionar un soporte estructural elástico [12].

La necesidad de materiales en ingeniería tisular nació fundamentalmente para el tratamiento de heridas en las cuales hay pérdida de dermis y epidermis [13]. Los materiales en ingeniería tisular pueden beneficiar a pacientes con quemaduras, úlceras crónicas y aquellos que requieren cirugía reconstructiva [14]. La mayoría de los biomateriales en uso clínico se basan en el colágeno natural o extraído y los desafíos clínicos se concentran en el uso de biomateriales que combinados con esquemas terapéuticos cumplan el mayor número de las siguientes características: promuevan la cicatrización, mantengan la lesión aséptica, permitan la regeneración del tejido epitelial a través de un mecanismo de inducción y conducción, mejoren los métodos de cultivo celular, aumenten la tasa de neovascularización, tengan una respuesta segura y que permitan generar andamios que resistan la contracción y la fibrosis [10, 12].

Dentro de los biomateriales utilizados para la construcción de andamios de soporte celular se tienen desde las sedas de araña hasta proteínas de matriz extracelular y otros biomateriales naturales que al modificarse químicamente confieren propiedades deseables al andamio. Biomateriales sintéticos biológicamente compatibles, tales como péptidos auto-ensamblados, polímeros orgánicos (polimetil metacrilato-PMMA, polietileno de ultra alto peso molecular-UHMWPE, poliamida-PA, policaprolactona-PCL), materiales inorgánicos (hidroxiapatita y titanio) o combinaciones de copolímero mixtos (poli-láctico co-glicólico-PLGA, ácido poli-D-L-láctico-PDLA, poli hidroxibutirato – co-hidroxivalerato-PHBV) están siendo cada vez más utilizados para la creación de andamios [15].

3.2 Heridas y Sustitutos

La pérdida de piel puede ocurrir por trastornos genéticos, traumas, heridas crónicas, por intervenciones quirúrgicas y por traumas térmicos; este último con importantes áreas de la piel involucradas y a menudo sin posibilidad de regeneración [16]. Las heridas de acuerdo a su profundidad pueden ser: epidérmica, superficial de espesor parcial [17], profundas de espesor parcial y de espesor completo [18]. Un sustituto de la piel en ingeniería debe actuar como una barrera para los microorganismos, controlar el intercambio de líquidos y poseer durabilidad y elasticidad a largo plazo. Además debe ser histocompatible, apoyar la cicatrización de la herida, carecer de antigenicidad y toxicidad, y ser rentable [19]. Desafortunadamente, en la actualidad las pieles sustitutas no son totalmente funcionales y carecen de folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas así como de los nervios y de los suministros de sangre [20], lo cual limita la efectividad de los tratamientos.

Los sustitutos dermo-epidérmicos: pretenden imitar la estructura histológica de la piel normal donde estén presentes las capas de la dermis y la epidermis. Son más avanzados que los sustitutos epidérmicos y dérmicos, y también más costosos [21]. La mayoría de estos productos se basa en las células de la piel alogénica, incorporado en un andamio dérmico. Los biomateriales actúan como apósitos temporales [22], proporcionando factores de crecimiento, citoquinas y MEC de células huésped mientras inician y regulan la cicatrización de heridas. Sin embargo, pueden ser rechazados unas semanas después de ser aplicados a la herida [23]. Un listado de sustitutos de piel (compuesto) dermo-epidérmico comercialmente disponibles pueden encontrarse en [16].

Los sustitutos epidérmicos: consisten en diseñar y construir capas de epidermis a partir de un cultivo de queratinocitos. Un paso clave en el diseño y la producción de sustitutos epidérmicos es el aislamiento de los queratinocitos de un donante y el posterior cultivo *in vitro* de estas células para obtener el número necesario al momento de la aplicación terapéutica. Los diferentes enfoques para la producción de sustitutos epidérmicos dependen de las técnicas de cultivo celular, la etapa de diferenciación celular y organización epitelial, los métodos de suministro de células al paciente, y los sustratos para mejorar el cultivo y la entrega de células [14, 24].

Los sustitutos cutáneos: La preparación de la herida y de la superficie receptora es muy importante para la aplicación de un injerto cutáneo eficaz. Los autoinjertos epiteliales ubicados en tejido de granulación crónica son recibidos en sólo el 15% de los casos, el porcentaje sube entre 28-47% en tejido de granulación temprana o una herida reciente y entre 45-75% de integración cuando se aplica a la herida en un soporte dérmico o neodermal. La mayoría de los productos para sustituciones dérmicas son acelulares, basados en materiales alogénicos, xenogénicos o sintético [25].

3.3 Injertos

3.3.1 Aloinjerto

Hace referencia a la piel humana cadavérica y es utilizada como una medida temporal para cubrir heridas hasta que suceda el cierre con un injerto de piel permanente. Sin embargo tienen alta tasa de rechazo por reacción inmune del tejido receptor [26]. La piel de cadáver puede ser tratada con un proceso químico para disminuir los componentes antigénicos, dejando una matriz celular inmuno-dérmica. El incorporar material aloinjerto en una herida profunda proporciona alivio del dolor y una cubierta durante y después de la lesión. Cuando el aloinjerto se vasculariza, las células epiteliales altamente inmunógenas desencadenan la respuesta inmune del huésped [16]. Cuando el aloinjerto es liofilizado, se

destruye el componente celular, disminuyendo la reacción inmunológica, la parte cutánea del injerto se incorpora en la parte de la herida y sirve como una cama dérmica para más deposiciones del injerto de piel autóloga. Sin embargo, su uso se ve limitado a la disponibilidad de bancos de piel [16]. Dentro de los aloinjertos existen actualmente diferentes marcas de uso comercial, dentro de las cuales se encuentran:

AlloDerm, GraftJacket, SureDerm: el AlloDerm es una matriz dérmica humana liofilizada, con membrana basal conservada. Se incorpora fácilmente en la herida y no provoca respuesta inmunógena, ni rechazo. Es reconocido como reemplazo dérmico y elemento reconstructor de hernias de pared abdominal, mastectomía subcutánea, rinoplastia y revascularización [27]. El GraftJacket es un producto similar, pre-mallado según la aplicación y utilizado para tendones y reparación de heridas de extremidades [28]. El SureDerm utiliza dermis humana alogénica acelular liofilizada, permite la sustitución o reparación de los tejidos blandos dañados incluyendo heridas por quemadura y revisión de cicatriz hipertrófica, adicionalmente proporciona una cama dérmica para un posterior injerto de piel [29].

Dermagraft: es un sustituto dérmico de fibroblastos humanos criopreservados utilizado en heridas crónicas que ayuda a aumentar la tasa de cicatrización. Consiste de fibroblastos procedentes de donantes, sembrados sobre un andamio de poliglactina recubierta de colágeno porcino bioabsorbible (matriz sintética) [14] y es considerado un compuesto dérmico y epidérmico, aunque no ha sido satisfactorio para tratar quemaduras graves.

Transcyte: es similar a Dermagraft en el diseño, ya que contiene los fibroblastos humanos del donante que han crecido en un andamio de poliglactina bioabsorbible recubierta de colágeno porcino, pero posee una membrana de silicona adjunta para actuar como una barrera temporal. Es recomendado para uso en quemaduras proporcionando una alternativa dérmica y una barrera epidérmica temporal [14].

OrCell: se basa en el cultivo de fibroblastos alogénicos y queratinocitos. Los fibroblastos se siembran en una esponja de colágeno tipo I (bovino), posee un recubrimiento de gel de colágeno no poroso, sobre los que se agregan queratinocitos para formar una capa confluyente. Produce una matriz de citoquinas y factores de crecimiento endotelial, vascular y de transformación, todos favorables a la migración de células receptoras y cicatrización. El producto fue autorizado en 2001 para el tratamiento de quemaduras y distrofias recesivas. Como sustituto de piel artificial genera cicatrices estéticas y tiene corto tiempo de curación [30].

Apligraf: es una matriz de colágeno bovino integrado con una hoja estratificada de epitelio humano, es

morfológica, bioquímica y metabólicamente similar a la piel humana y ofrece componentes de la MEC, factores de crecimiento y citoquinas, pero con poco tiempo de supervivencia [31]. Es utilizado en tratamientos de quemaduras de espesor parcial y genera cierre definitivo pero a largo plazo necesita un injerto autólogo de origen epitelial. Es de fácil manejo, con buena curación y puede realizar funciones de cicatrización [32].

3.3.2 Autoinjerto

El estándar de oro para el reemplazo de la piel continúa siendo el injerto de piel autóloga. En éste se separa una zona de piel de un tejido adecuado y se trasplanta en el mismo individuo a la zona receptora de la que debe recibir un nuevo suministro de sangre. En el sitio donde se ha quitado el injerto, la piel sanará por queratinocitos dentro de la dermis. El sistema autoinjerto ha mostrado ser exitoso en tratamientos de úlceras de pie diabético, neuroisquemia, úlceras neuropáticas y tratamientos postquirúrgicos. Los materiales utilizados como autoinjertos se basan en cultivos criopreservados del paciente que son depositados sobre una matriz constituida por el material comercial. Dentro de los materiales autoinjertos comercialmente más utilizados para ingeniería de tejido de piel se tienen [20]:

PolyActive: Es un producto bilaminar basado en cultivos de queratinocitos, mioblastos y fibroblastos autólogos sembrados sobre una matriz polimérica. Es normalmente usado para la reparación de hueso y piel. El producto utiliza mioblastos disminuyendo el riesgo de contaminación por agentes infecciosos o rechazo inmune [16].

Epicel, *EPIBASE*, *EpiDex*: son fabricados utilizando queratinocitos del paciente cultivados en hojas de CEAs (cultivo epitelial de autoinjertos). *Epicel* y *EPIBASE* parten de células derivadas de pequeñas biopsias de piel, mientras que *EpiDex* proviene de cultivos de queratinocitos obtenidos del exterior de la raíz de folículos pilosos de cuero cabelludo [33]. Tiene largo tiempo de cultivo, difícil manejo, pobres resultados a largo plazo, necesidad de soporte cutáneo, alto costo y corta vida útil [34], si bien sigue siendo importante en el tratamiento de quemaduras.

MySkin: usa queratinocitos vivos y autólogos sub-confluentes cultivados en una capa de silicona. Son de fácil manejo, bajo tiempo de cultivo y de rápida entrega al paciente. Es utilizado clínicamente en tratamientos neuropáticos, úlceras de presión y pie diabético, quemaduras superficiales y sitios de donantes de injerto de piel. Se aplica en heridas de espesor completo en combinación con injertos de piel [35].

Bioseed-S: Son cultivos autólogos sub-confluentes de queratinocitos resuspendidos en un sellador de fibrina. Ha sido usado para tratar úlceras de pierna venosa crónica y los ensayos clínicos demuestran un aumento en la cicatrización de casi 50% en comparación con el tratamiento estándar [33].

CellSpray: se basa en la posibilidad de cosechar queratinocitos sub-confluentes en su estado de proliferación más activo [18]. Es ampliamente utilizado en heridas de espesor parcial e injertos donantes. En heridas de espesor completo aún requieren un elemento dérmico para lograr la restauración de la piel funcional de manera permanente [36].

3.3.3 Xenoinjerto

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

Permacol: resulta del entrecruzamiento de colágeno porcino dérmico y puede ser usado como vendaje de piel temporal. Reduce los riesgos asociados a las enfermedades virales humanas transferibles (VIH y HEPB) y la amplia disponibilidad de materias primas hace más fácil y barata su producción. Se utiliza principalmente para la reconstrucción de la pared abdominal, especialmente cuando está presente una contaminación microbiana [37]. Su uso para la reconstrucción dérmica es limitada debido a su lenta biointegración y vascularización.

OASIS matriz de herida: es producido a partir del intestino delgado porcino y la sub-mucosa. Es destinado a la estimulación de cierre de heridas agudas, crónicas y heridas por quemaduras. Es liofilizado y descelularizado para evitar las respuestas inmunológicas y apoya la diferenciación epidérmica *in vitro* y la formación de membrana basal [16].

3.4 Biomateriales

Los biomateriales utilizados para implantes e interacción directa con tejido biológico deben cumplir con propiedades biológicas, físicas, químicas y mecánicas aptas para procesos de locomoción y adhesión celular, con baja toxicidad, alta promoción celular, estabilidad a la degradación y un adecuado comportamiento térmico, entre otras [14, 38]. El enfoque actual de la investigación en aplicaciones dérmicas, epidérmicas y sustituto de componentes de la piel, se dirige hacia el desarrollo de una ingeniería de tejidos equivalente que combine fuentes celulares activas con materiales naturales o sintéticos [12, 20].

3.4.1 Materiales naturales

El colágeno

El colágeno es una de las proteínas más abundantes en la naturaleza y es el responsable de mantener la integridad estructural de los tejidos. En la piel están presentes principalmente los tipos de colágeno sintetizados por los fibroblastos y los miofibroblastos. Ha sido utilizado en el diseño de sustitutos de la piel [22] y recientemente se ha utilizado para crear un modelo de endotelio de la dermis que promueve la reconstrucción espontánea de un capilar humano en forma de red [20, 39]. Los problemas radican en los detalles de cómo son extraídos, procesados y esterilizados para ser aptos y de bajo riesgo para el paciente [12]. Es utilizado en diversas formas para aplicación en ingeniería de tejido de piel:

Geles de colágeno hidratados: presenta una alta ventaja en aplicaciones clínicas, dado que su alta producción de queratinocitos y fuerte anclaje permiten la producción de un área de superficie grande a ser injertada. Su uso se ha extendido a la producción de otros tejidos, como vasos sanguíneos, ligamentos y bronquios [40]. Algunos de los más utilizados han sido el colágeno tipo IV, laminina, péngfigo ampoloso antigéno y colágenos tipo VII [40].

Colágeno bovino: los derivados del colágeno bovino son hoy en día aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (*FDA*) y percibidos como elementos de bajo riesgo. El colágeno bovino, disponible en tiras y hojas como película o en polvo, es asequible y de fácil manejo, tiene buena adherencia y excelente potencial de vascularización. Su desventaja se centra en la falta de función de barrera y elasticidad, y su incapacidad para prevenir la invasión bacteriana [12].

Colágeno enriquecido: el colágeno enriquecido se basa en la producción o síntesis de colágeno promovido a través de cultivos enriquecidos, como por ejemplo de osteoblastos de hueso de rata fetal, para obtener tasas de síntesis superiores. El colágeno enriquecido favorece la coagulación, el crecimiento del tejido conectivo incluyendo a los folículos pilosos y las glándulas sebáceas haciéndolo favorable para la cicatrización [41]. Es utilizado para reparar daños o traumas químico-mecánicos de piel o mucosas y en general, favorece la regeneración íntegra de la piel en heridas profundas, permitiendo el restablecimiento en cortos periodos de tiempo [42].

La fibroína

Las sedas son polímeros de origen natural que se componen de un núcleo de filamentos de proteínas, seda fibroína y un revestimiento similar al pegamento. Las sedas más estudiadas son el capullo de seda del gusano y la seda o red de arrastre de la araña. La seda fibroína

es cada vez más estudiada en aplicaciones biomédicas, dada su biocompatibilidad, lenta biodegradabilidad y propiedades mecánicas que combinan peso ligero, alta resistencia y notable dureza y elasticidad [43], además de propiedades térmicas que les permiten ser procesadas en un amplio intervalo de temperaturas [44]. La seda fibroína en varios formatos (películas, fibras, redes, mallas, membranas, hilos, y esponjas) se utiliza para apoyar la adhesión de las células madre, la proliferación y diferenciación *in vitro* y para promover la reparación de una amplia gama de tejidos *in vivo* como cartílagos artificiales, fragmentos de tejido óseo, vasos sanguíneos, tejido epitelial y tejido nervioso óseos [45].

El quitosano

También llamado chitosán, es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de D-glucosamina y de N-acetil-D-glucosamina. Es un material bioadhesivo, biocompatible y biodegradable. Se compone de una doble capa de hidrogel sin entrecruzamiento externo y es ampliamente utilizado en el campo de la biomedicina. Sus propiedades le permiten aplicaciones en encapsulación de células, transporte de principios activos a través de las superficies epiteliales, cultivo celular, reparación de cartílago y reconstrucción de huesos [46]. En mezcla con algodón, se ha encontrado como acelerador de cicatrización de las heridas [47], es presentado como un material ideal para la ingeniería de tejidos, de fácil manejo, transferencia y aplicación. El quitosano y soluciones viscosas permiten a la dermis la unión dermo-epidérmica y la reconstrucción de la reepitelización del espesor de la piel [46]. Sin embargo, su baja porosidad se opone a cualquier transferencia física (migración) de las células vivas a lo largo de su estructura [48].

3.4.2 Sintéticos

Un beneficio compartido por todos los biomateriales sintéticos es que reducen al mínimo el riesgo de transporte de elementos patógenos o contaminantes, además de presentar características modificables para programar la liberación de principios activos [7]. El mayor beneficio de los biomateriales sintéticos es que pueden ser diseñados para satisfacer necesidades específicas. Dos de los materiales denominados bio-sintéticos más utilizados son el EZ Derm y el Integra.

EZ Derm: es un colágeno reconstituido de origen porcino que se entrelaza con aldehído para aumentar su resistencia a la tracción. El producto es comercializado como un vendaje de herida [49]. Presenta alta tasa de colonización bacteriana y corto tiempo para el alivio del dolor.

Integra: consiste en un componente dérmico poroso de bovino de colágeno tipo I y glucosaminoglicano de condroitín sulfato procedente de cartilago de tiburón que está enlazado a una pseudo-epidermis de silicona. El componente dérmico se convierte en células de huésped y el andamio se degrada para proteger las heridas de la contaminación bacteriana y la pérdida de vapor [14]. Ha sido utilizado en heridas por quemadura de espesor completo y úlceras crónicas [50]. Como ventajas presenta larga vida, fácil manejo, bajo riesgo de respuesta inmunógena y buenos resultados cosméticos. Sin embargo, no se puede utilizar en heridas infectadas y tiene largo tiempo de vascularización, además de requerir un segundo procedimiento quirúrgico para lograr el cierre permanente de la herida [51].

Dentro de los materiales sintéticos, los más utilizados a nivel biomédico son los polímeros tales como: ácido poliglicólico-PGA, PLGA, ácido poli L-láctico-PLLA, ácido poliláctico-PLA. Matrices usadas en aplicaciones terapéuticas están hechas de polímeros que son reabsorbidos o degradados por el cuerpo [52], aunque con la desventaja de ser hidrofóbicos, perjudicando ciertos procesos celulares [53]. Los materiales poliméricos para aplicaciones en piel tienen la desventaja que fueron adaptados de otros usos quirúrgicos presentando deficiencias en sus propiedades mecánicas y de degradación [54], además de que es necesaria la construcción de andamios con formas específicas con mejor arquitectura porosa interna que ayude al crecimiento del tejido [55].

Los polímeros biodegradables que comúnmente se mezclan para ajustar las tasas de degradación son el PGA y PLA. La adición de un grupo metilo, permite al PLA ser más hidrofóbico y se degrada más lentamente que el PGA. Los copolímeros de PLGA son amorfos y presentan rápidas tasas de degradación [56].

Aunque las nuevas aplicaciones tecnológicas surgen como herramienta para la fabricación precisa de materiales de tamaño de poro definido por la película o las tecnologías de impresión tridimensional [57] y electrospinning [58], también los polímeros y sus productos de degradación deben ser no tóxicos y no inmunogénicos.

Las matrices poliméricas nanoporosas o nanofibras pueden ser fabricadas a través de electrospinning, separación de fases, partículas de lixiviación, grabado químico o técnicas de impresión en 3D [52]. El electrospinning viene siendo utilizado para fabricar andamios de nanofibras de gran superficie y alta porosidad para la transferencia de nutrientes. Los andamios a través de polímeros sintéticos como PLLA, PLGA

y PCL son citocompatibles y presentan propiedades mecánicas excepcionales, adaptables específicamente para aplicaciones en regeneración de tejidos [53].

3.5 *Nanomateriales en ingeniería de tejidos*

Entre la ciencia de los materiales y la nanotecnología, los nanomateriales son una herramienta versátil para la ingeniería y la terapia celular. Los nanomateriales pueden ser descritos como materiales con dimensiones constitutivas en la escala de un nanómetro [59], con características únicas que pueden cumplir funciones en la ingeniería celular. En primer lugar, la escala subcelular de los nanomateriales asegura la interacción con las células con resolución molecular que conduce a una mayor citocompatibilidad y bioactividad. En segundo lugar, los nanomateriales presentan propiedades mecánicas, eléctricas, ópticas y magnéticas únicas en comparación con sus homólogos en escalas macro o micro, permitiendo mayor y más diversa capacidad de control de las funcionalidades celulares. Por otra parte, pueden imitar las propiedades de superficie, tales como la topografía y la energía de la MEC en los tejidos naturales [60]. Las principales aplicaciones de los nanomateriales en la medicina regenerativa son: como andamios para el crecimiento celular, como vehículos de entrega de las biomoléculas y como nanodispositivos para biosensores [5].

En medicina regenerativa los nanomateriales pueden ser aplicados en sus diferentes etapas: a) aislamiento celular, b) instrucción de células *in vitro* y c) portadores de células para la terapia regenerativa.

3.5.1 *Nanomateriales en aislamiento celular*

El primer reto en la terapia celular es identificar y aislar la fuente de células diana de una población heterogénea de células mediante un procedimiento que sea económico, eficiente y conveniente. Los nanomateriales (como nanopartículas), con tamaño insignificante en comparación con las células, pueden ser etiquetas ideales para modificar selectivamente las células y lograr aplicar fuerzas externas (por ejemplo, de tipo magnético) para su separación sin representar efectos negativos sobre las funciones celulares. El aislamiento de células basado en nanomateriales es especialmente valioso en la clasificación de células madre, las cuales generan fuentes celulares óptimas para la terapia celular regenerativa. Hoy en día, el uso de nanopartículas en la separación de células mediante activación magnética (MACS, del inglés *magnetic-activated cell sorting*) se ha convertido en una herramienta popular, incluso como un procedimiento de rutina para la separación de células madre/progenitoras o células diferenciadas de tejido ya sea natural o población de células cultivadas [61]. El MACS es útil para aislar los

tipos de células deseados y para la eliminación de células no deseadas, lo que podría posibilitar el uso de células madre embrionarias humanas (hESCs) diferenciadas en medicina regenerativa [62].

Por otro lado, la clasificación de células asistida por fluorescencia (FACS) está siendo integrada con nanomateriales como *Quantum Dots* (puntos cuánticos) para ofrecer una alternativa a los colorantes orgánicos y proteínas fluorescentes de marcación celular, con propiedades ópticas únicas y foto-estabilidad a largo plazo. Los nanomateriales utilizados en MACS o FACS, al ofrecer alta selectividad y eficiencia de purificación, facilitarán en gran medida la producción óptima de fuentes de células para su posterior utilización en medicina regenerativa [5].

3.5.2 Nanomateriales para ensayos *in vitro*

Los ensayos con células *in vitro* incluyen (aunque no se limitan) a la entrega de cargas genéticas/epigenéticas para la manipulación genética de las células, la modificación de funciones que mejoren o adicione funciones celulares, y para gobernar el comportamiento celular mediante estímulos físicos y químicos. De acuerdo con las funciones de los nanomateriales estos pueden inferir en los ensayos *in vitro* de tres formas: como vehículos de suministro, como modificador funcional, y como MEC artificiales [63].

Vehículos de suministro: Debido al pequeño tamaño, alta relación de volumen superficial y la capacidad de realizar múltiples funciones, los nanomateriales son ideales para la entrega de cargamentos moleculares (principios activos, genes o proteínas) a las células. Los nanomateriales se utilizan cada vez más para la edición directa y la modificación del genoma o la herencia epigenética de las células deseadas, con el fin de manipular las funciones celulares [64].

Modificadores funcionales: Diversas estrategias químicas y de la ciencia de materiales se están desarrollando para modificar la membrana celular con módulos multifuncionales como agentes de imagen, portadores cargados con medicamentos y agentes de bio-respuesta, ofreciendo un potente complemento a la supervisión y control de las células trasplantadas *in vivo* (por ejemplo, el tráfico o expresión de la proteína) [65]. Debido a sus propiedades distintivas y la flexibilidad de incorporar módulos funcionales, los nanomateriales se desarrollan cada vez más para la modificación de la superficie celular para mejorar la eficacia terapéutica.

MECs artificiales: estos proporcionan indicaciones nanotopológicas para el cultivo celular. Las superficies del microambiente celular están cubiertas con ranuras, crestas, fosas, poros y la malla fibrilar de la MEC. Las

MECs naturales están compuestas predominantemente de fibras de elastina con diámetros que varían entre 10 y 300 nm [66] y fibras de colágeno entrelazadas. Dado que las células pueden responder a las características topográficas de su microambiente, los diseños nanotopológicos a través de las técnicas *top-down* y *bottom-up* pueden proporcionar medios no invasivos y no-bioquímicos para controlar el crecimiento y la diferenciación celular.

3.5.3 Portadores de células

La eficacia de los tratamientos existentes a partir de portadores celulares no ha sido totalmente satisfactoria debido a la pobre viabilidad celular, mínima retención celular, baja eficacia de injerto de tejido y la falta de remodelación funcional de las células entregadas [67]. Los nanomateriales sintéticos se presentan como prometedores portadores celulares, dada su capacidad para recrear las características de nano-MECs naturales, cuyas características estructurales en la nanoescala juegan un papel crítico en el mantenimiento de las estructuras y funciones de las células y tejidos. Las estructuras topológicas de los nanomateriales como fibras, canales o poros aumentan dramáticamente las áreas de contacto de los nanomateriales con células, promoviendo la migración, proliferación y demás condiciones de transporte celular, conduciendo así a una mejor regeneración del tejido [68].

3.6 Estrategias de biomateriales para la ingeniería de tejidos de la piel

En la mayoría de los tejidos nativos, las células están contenidas dentro de un tejido específico tridimensional (3D) de la MEC, que comprende una red compleja de fibras a la nanoescala formando microambientes locales altamente estructurados. La comunicación celular, el transporte de oxígeno y nutrientes, la eliminación de desechos y el metabolismo celular requiere tal entorno, donde la orientación celular puede ser polarizada y el movimiento de los contenidos puede ser direccional. Estos andamios ayudan a la proliferación y diferenciación celular y a la difusión de nutrientes vitales, ejerciendo influencias mecánicas y biológicas a las células. En general, se planteó la hipótesis de que una imitación cercana a la MEC natural podría proporcionar un andamio con un entorno más propicio para apoyar la adhesión, migración, proliferación y diferenciación de las células madre [6].

Con el fin de imitar mejor la nanoestructura de la MEC natural, los nanomateriales se muestran como candidatos prometedores que se asemejan a la MEC y que reemplacen con eficacia los tejidos defectuosos. Durante la última década, andamios fabricados a partir de nanofibras, nanotubos y nanopartículas han sido investigados para la manipulación de células madre destino. Las nanofibras son

de los materiales mayormente reportados, que parten de polímeros biodegradables sintéticos como PLA, PLGA, alcohol polivinílico -PVA o PCL; y materiales naturales tales como colágeno y quitosano. Los nanotubos de carbono y nanotubos de dióxido de titanio (TiO₂) ofrecen también buenas opciones para la fabricación estructural [5, 6, 8, 59].

Algunos de estos nanomateriales han sido ya aprobados por la FDA de los Estados Unidos como parte de la formulación del fármaco, por ejemplo, Abraxane, donde el medicamento contra el cáncer Taxol se adjunta a las nanopartículas; NanoOss (nanocristales de calcio y fosfatos) para la ingeniería de tejidos; microesferas de PLGA empleadas en los sistemas de administración de fármacos inyectables de depósito, aunque en la forma de las partículas más grandes; los fármacos basadas en diamondoid (memantina, 1-amino-3, 5-dimetiladamantano) para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer moderada a severa; varias formulaciones liposomales (Doxil por ejemplo, liposomas que contienen doxorubicina), entre otros [69].

Algunos de los materiales utilizados para la creación de andamios de soporte para ingeniería de tejido de piel son:

3.6.1 Andamios 3D con gel de colágeno

El colágeno es un componente importante de la matriz extracelular, su función principal es mantener la integridad de los tejidos y proporcionar una resistencia apropiada, y un entorno de crecimiento celular [70]. El sistema de cultivo en gel de colágeno 3D permite la inducción de ciliogenesis y proporciona soporte al mantenimiento, desarrollo, diferenciación y propagación para el crecimiento de cilios en el TEC (tejido epitelial ciliado). El TEC desarrollado por este sistema puede mantenerse durante meses con un protocolo de mantenimiento sencillo y simple. El enfoque en ingeniería de tejidos 3D al generar un cultivo de TECs con andamios de gel de colágeno y sistema de cultivo de tejidos IAL (interface aire-líquido), permiten el análisis y desarrollo de células ciliadas primarias con potencial aplicación en principios activos y toxicología en la piel [70].

3.6.2 Andamios en fibroína

La seda fibroína se ha utilizado como material de recubrimiento para andamios poliméricos, diseñados para el cultivo de células en ingeniería de tejidos y se ha comenzado a combinar con materiales sintéticos. Cai y su equipo, en 2002, realizaron un recubrimiento PDLA con películas de seda fibroína encontrando mejor interacción entre los osteoblastos y las películas de polímero [71]. Por su parte, Chiarini y su equipo, en 2003, examinaron el efecto de la seda fibroína en revestimientos de sustratos

2D de poli (carbonato)-uretano encontrando que el recubrimiento de seda fibroína mejoró la adhesión celular, incrementó la proliferación y aumentó la absorción de la glucosa [72]. Adicionalmente, los fibroblastos sembrados no secretaron niveles apreciables de algunas citocinas implicadas en la inflamación y reparación del tejido [71-72].

3.6.3 Andamios en otros materiales

Colágeno híbrido AMPs

Ciertos diseños de andamios de malla de punto (del inglés *knitted mesh scaffolds -KMSs*) coinciden con las propiedades mecánicas del tejido nativo o dan lugar a propiedades mecánicas adecuadas, proporcionando una buena plataforma para su estudio. Algunas características de los AMPs en regeneración de tejidos y actividad celular son: (1) poseen excelentes propiedades mecánicas, cambian la distribución de tensión y presión, y mantienen las estructuras porosas 3D *in vitro* e *in vivo*; (2) las estructuras porosas bien mantenidas facilitan la difusión de nutrientes y la eliminación de residuos y ofrecen espacio suficiente para la migración celular y crecimiento vascular y (3) dado que las células existentes se adhieren a las áreas específicas en la superficie (AES) alrededor de los poros, las propiedades mecánicas pueden afectar la distribución de estas AES manteniendo estructuras porosas, regulando el comportamiento celular y la formación de tejidos [73]. Dentro de los biomateriales más trabajados para este tipo de andamios se encuentran la seda y el PLGA.

Este tipo de mallas se fabrican preferiblemente con materiales híbridos compuestos por materiales naturales y sintéticos que puedan conservar buena biocompatibilidad, alta porosidad y a la vez buena elasticidad y resistencia [73-74]. Algunos de los trabajos hasta ahora realizados han logrado andamios porosos a base de híbridos con PLGA, ácido hialurónico y derivados naturales de colágeno bovino, mostrando características de buena biocompatibilidad, altas propiedades mecánicas, buena distribución, proliferación celular *in vitro* y buena respuesta del tejido *in vivo*.

Polímeros híbridos de colágeno y PLGA

El colágeno puede ser utilizado solo o en combinación con otros componentes de matriz extracelular como factores de crecimiento y glucosaminoglicanos, con el objetivo de mejorar la proliferación y el crecimiento vascular proporcionando un sustrato para la regeneración epidérmica. Sin embargo, los andamios basados en colágenos presentan una rápida absorción y baja resistencia mecánica. Los polímeros sintéticos biodegradables (p.ej. PLA, PGA, PLGA y PCL) también han sido utilizados como matrices para la regeneración de la piel y el PLLA, poli tereftalato de etileno-PET y

poli tereftalato de butileno-PBT, apoyan la proliferación de queratinocitos y fibroblastos dérmicos humanos. Las mallas poliméricas sintéticas demuestran buena biocompatibilidad, buenas propiedades mecánicas y son de fácil manejo. Sin embargo, los andamios de polímeros sintéticos tienen problemas de hidrofobicidad superficial y pérdida de células sembradas [75].

PETG/PBT

Ghalbzouri *et al* en 2004 diseñaron equivalentes de piel humana con copolímeros biodegradables segmentados PETG/PBT (*Polyethylene Terephthalate Glycol-modified*/poli tereftalato de butileno). Este polímero biocompatible fue desarrollado por primera vez como sustituto dérmico de dos capas que combina un PETG/PBT [76]. Los resultados encontrados en un modelo de herida de rata, mostraron que los queratinocitos sembrados fueron capaces de regenerar una epidermis, pero con lenta degradación de las matrices después de la implantación subcutánea del andamio PETG/PBT. El estudio de Ghalbzouri *et al* demostró que el sustituto dérmico poroso PETG/PBT y las láminas epidérmicas cultivadas podrían combinarse para generar un equivalente de piel humana en medio libre de suero y con factores de crecimiento exógenos. Presentó como ventaja que durante el período de cultivo el sustituto dérmico no se contrajo y la matriz fue de fácil manejo, adicionalmente el sustituto poroso sintético logró optimizar el tamaño de poro y la morfología llevando a una rápida formación de cicatrices.

IV. CONCLUSIÓN

En relación a los biomateriales de mayor uso clínico, se tienen aquellos basados en colágenos naturales o extraídos y el quitosano, con ventajas como alta adherencia y vascularidad que permiten un restablecimiento total del tejido en corto tiempo, pero con deficiencias en funciones de barrera, baja resistencia mecánica y poca elasticidad. De los biomateriales sintéticos los más utilizados son los polímeros como el PCL, PLLA, PLGA, PGA y PLA, los cuales cuentan con excelentes propiedades mecánicas, son de fácil fabricación y son biodegradables, pero carecen de señales moleculares para controlar la actividad celular.

De los futuros nanomateriales se espera que sean cada vez más inteligentes, que permitan la conmutación controlada de propiedades a través de factores externos como campos magnéticos, luz [77] o factores ambientales como pH o hipoxia. Igualmente se esperan nanomateriales multifuncionales capaces de cumplir misiones multiplex, como la integración de funciones de direccionamiento, modificación y rastreo celular.

El abordar aplicaciones *in vivo* para aquellos procesos ya creados *in vitro* es otro de los grandes retos. La

ingeniería de células basada en nanomateriales se ha logrado principalmente *in vitro*, y para su paso hacia la aplicación clínica se tiene la preocupación de problemas relacionados con toxicidad y seguridad. Actualmente, la mayoría de los nanomateriales aprobados por la FDA para el uso clínico están en forma de nanopartículas que puede ser aplicada ya sea como agentes para el seguimiento de células, como vehículos de administración para agentes terapéuticos o como polvos nanocristalinos para facilitar la regeneración de tejidos [78]. Algunas de las aplicaciones se han dirigido al tratamiento de esclerosis múltiple [79], acelerar la cicatrización de heridas o facilitar la reparación de tejidos [80] y en úlceras de estasis venosa para los pacientes diabéticos [81].

El dramático aumento de desarrollos con nanomateriales prevé un alcance clínico para la ingeniería celular y terapia regenerativa que puede cumplir con las funciones más diversificadas desde el monitoreo de células a la liberación controlada de biomoléculas, por ejemplo, como nanosensores *in vivo* para bio-detección, como nanofiltros para la clasificación de células o como agentes de orientación para dirigir los agentes terapéuticos al sitio de suministro [82]. Además, en relación a reparación de tejidos se espera la reproducción de funciones más complejas propias de los sistemas cardiovascular y nervioso. En particular, los nanomateriales utilizados como portadores celulares son prometedores para aplicaciones clínicas para mejorar la retención, la viabilidad y la capacidad regenerativa de las células trasplantadas.

La comprensión de las interacciones de las nanopartículas con las estructuras comunes de la piel, es decir, los surcos, los folículos pilosos, conductos ecrinos, etc., son absolutamente críticos para la mejora del suministro de fármacos percutáneos. El perfeccionamiento de la química de las nanopartículas permitirá una mejor interacción nanopartícula – tejido. Los estudios preclínicos y clínicos han demostrado que la nanoencapsulación puede reducir los efectos secundarios y mejorar la eficacia de ciertos medicamentos. El número de publicaciones relacionadas con nanopartículas y piel es amplio y sigue en aumento, haciendo de ésta un área apasionante y prometedora de la ciencia.

El desarrollo de nuevos materiales y las mejoras de aquellos que ya están constituidos permitirán tratamientos de piel con menos riesgo de infección, dolor y toxicidad, permitiendo la rehabilitación exitosa de un paciente en menos tiempo y mitigando el traumatismo ocasionado por la lesión o pérdida del tejido. De igual forma es necesario fomentar la realización de investigaciones hacia la ingeniería de tejidos en Colombia, que permitan aportar nuevo conocimiento y nuevos desarrollos que lleguen a convertirse en alternativas médicas en Colombia y en el mundo.

REFERENCIAS

- [1]. Estrada C., Paz A., López L. Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas. *Revista ELA*, 5, 93–100, 2006.
- [2]. Zlochiver S., Radai M. M., Abboud S., Rosenfeld M., Dong X.-Z., Liu R.-G., You F.-S., Xiang H.-Y., Shi X.-T. Induced current electrical impedance tomography system: experimental results and numerical simulations. *Physiological measurement*, 25(1), 239–55, Feb. 2004.
- [3]. Franco M. A. H., Gonzáles N. C. J., Díaz M. E. M., Pardo S. V., Ospina S. Epidemiological and clinical profile of burn victims Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, 1994-2004. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 32(8), 1044–51, Dec. 2006.
- [4]. Puerta D., Molina C., Cano M. Soluciones terapéuticas para la reconstrucción de la dermis y la epidermis. Oportunidades en el medio antioqueño. *Revista Ingeniería Biomédica*, 2(3), 77–83, 2008.
- [5]. Chen H., Zeng Y., Liu W., Zhao S., Wu J., Du Y., Multifaceted applications of nanomaterials in cell engineering and therapy. *Biotechnology advances*. 31(5), 638–53, Jan. 2013.
- [6]. Zhao C., Tan A., Pastorin G., Ho H. K. Nanomaterial scaffolds for stem cell proliferation and differentiation in tissue engineering. *Biotechnology advances*, 31(5), 654–68, Jan. 2013.
- [7]. Lanza R., Langer R., Vacanti J. Principles of tissue engineering. 2007.
- [8]. Chen Q., Liang S., Thouas G. A. Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*, 38, 584–671, 2013
- [9]. Bell E. Tissue engineering in perspective. *Principles of Tissue Engineering*. Academic Press, NY, 2000.
- [10]. Langer R., Vacanti J. Tissue engineering. *Science*, 260. 920–926, 1993.
- [11]. Harty M., Neff A. W., King M. W., Mescher A. L. Regeneration or scarring: an immunologic perspective. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 226(2), 268–79, Feb. 2003.
- [12]. MacNeil S. Biomaterials for tissue engineering of skin. *Materials Today*, 11(5), 26–35, May 2008.
- [13]. Hart D. W., Wolf S. E., Chinkes D. L., Gore D. C., Mlcak R. P., Beauford R. B., Obeng M. K., Lal S., Gold W. F., Wolfe R. R., Herndon D. N. Determinants of skeletal muscle catabolism after severe burn. *Annals of surgery*, 232(4), 455–65, Oct. 2000.
- [14]. MacNeil S. Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature*, 445(7130), 874–80, Feb. 2007.
- [15]. Holmes T. C. Novel peptide-based biomaterial scaffolds for tissue engineering. *Trends in biotechnology*, 20(1), 16–21, Jan. 2002.
- [16]. Shevchenko R. V., James S. L., James S. E. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 7(43), 229–58, Feb. 2010.
- [17]. Blanpain C., Lowry W. E., Geoghegan A., Polak L., Fuchs E. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell*, 118(5), 635–48, Sep. 2004.
- [18]. Chester D. L., Balderson D. S., Papini R. P. G. A review of keratinocyte delivery to the wound bed. *The Journal of burn care & rehabilitation*, 25(3), 266–75, 2004.
- [19]. Ahsan T., Nerem R. M. Bioengineered tissues: the science, the technology, and the industry. *Orthodontics & craniofacial research*, 8(3), 134–40, Aug. 2005.
- [20]. Metcalfe A. D., Ferguson M. W. J. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 4(14), 413–37, Jun. 2007.
- [21]. Jones I., Currie L., Martin R. A guide to biological skin substitutes. *British journal of plastic surgery*, 55(3), 185–93, Apr. 2002.
- [22]. Supp D. M., Boyce S. T. Engineered skin substitutes: practices and potentials. *Clinics in dermatology*, 23(4), 403–12, 2005.
- [23]. Clark R. A. F., Ghosh K., Tonnesen M. G. Tissue engineering for cutaneous wounds. *The Journal of investigative dermatology*, 127(5), 1018–29, May 2007.
- [24]. Atiyeh B. S., Costagliola M. Cultured epithelial autograft (CEA) in burn treatment: three decades later. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 33(4), 405–13, Jun. 2007.
- [25]. Orgill D. P., Butler C., Regan J. F., Barlow M. S., Yannas I. V., Compton C. C. Vascularized collagen-glycosaminoglycan matrix provides a dermal substrate and improves take of cultured epithelial autografts. *Plastic and reconstructive surgery*, 102(2), 423–9, Aug. 1998.
- [26]. Burd A., Chiu T. Allogenic skin in the treatment of burns. *Clinics in dermatology*, 23(4), 376–87, 2005.
- [27]. Lesser T., Aboseif S., Abbas M. A. Combined endorectal advancement flap with Alloderm graft repair of radiation and cryoablation-induced rectourethral fistula. *The American surgeon*, 74(4), 341–5, Apr. 2008.
- [28]. Furukawa K., Pichora J., Steinmann S., Faber K. J., Johnson J. A., King G. J. W. Efficacy of interference screw and double-docking methods using palmaris longus and GraftJacket for medial collateral ligament reconstruction of the elbow. *Journal of shoulder and elbow surgery*. 16(4), 449–53, 2007.
- [29]. Kim H., Ahn S., Park J. Absorption Rates of Various-thickness Human Acellular Dermal Grafts(SureDerm(R)). *Journal of the Korean Society of Plastic and Reconstructive Surgeons*, 30(2), 224–230, Mar. 2003.
- [30]. Still J., Glat P., Silverstein P., Griswold J., Mazingo D. The use of a collagen sponge/living cell composite material to treat donor sites in burn patients. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 29(8), 837–41, Dec. 2003.
- [31]. Griffiths M., Ojeh N., Livingstone R., Price R., Navsaria H. Survival of Apligraf in acute human wounds. *Tissue engineering*, 10(7–8), 1180–95, 2004.
- [32]. Eaglstein W. H., Falanga V., Tissue engineering and the development of Apligraf a human skin equivalent. *Advances in wound care: the journal for prevention and healing*, 11(4) Suppl, 1–8, 1997.
- [33]. Vacher D. [Autologous epidermal sheets production for skin cellular therapy]. *Annales pharmaceutiques françaises*, 61(3), 203–6, May 2003.
- [34]. Horch R. E., Kopp J., Kneser U., Beier J., Bach A. D. Tissue engineering of cultured skin substitutes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9(3), 592–608, 2005.
- [35]. Moustafa M., Bullock A. J., Creagh F. M., Heller S., Jeffcoat W., Game F., Amery C., Tesfaye S., Ince Z., Haddow D. B.,

- MacNeil S. 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, Nov. 2007.
- [36]. Wood F. M., Kolybaba M. L., Allen P., 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, Jun. 2006.
- [37]. Parker D. M., Armstrong P. J., Frizzi J. D., North J. H. Porcine dermal collagen (Permacol) for abdominal wall reconstruction. *Current surgery*, 63(4), 255–8, 2006.
- [38]. Soria J., González J. B. Uso de biomateriales en medicina regenerativa, aspectos básicos y aplicaciones en el sistema nervioso. *Trauma*, 20(1), 15–22, 2009.
- [39]. Tremblay P.-L., Hudon V., Berthod F., Germain L., Auger F. A. Inoculation of tissue-engineered capillaries with the host's vasculature in a reconstructed skin transplanted on mice. *American journal of transplantation*. 5(5), 1002–10, May 2005.
- [40]. Auger F. A., Rouabhia M., Goulet F., Berthod F., Moulin V., Germain L. Tissue-engineered human skin substitutes developed from collagen-populated hydrated gels: clinical and fundamental applications. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 36(6), 801–812, Nov. 1998.
- [41]. Suárez A., Salgado R. M., Zamira A. M., Krötzsch E., Inducción de tejido de granulación por pasta de Lassar vs colágena-Polivinilpirrolidona en úlceras por insuficiencia venosa. *Cirugía Plástica*, 14(1), 5–13, 2004.
- [42]. Leon B. Caracterización del pulverizado de hueso de bovino desmineralizado y evaluación de su capacidad regenerativa en piel de ratas. Tesis de grado, Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2006.
- [43]. Rising A., Nimmervoll H., Grip S., Fernandez-Arias A., Storckenfeldt E., Knight D. P., Vollrath F., Engström W. Spider Silk Proteins – Mechanical Property and Gene Sequence, *Zoological Science*, 22(3), 273–281, Mar. 2005.
- [44]. Wong Po Foo C., Kaplan D. L. Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. *Advanced drug delivery reviews*, 54(8), 1131–43, Oct. 2002.
- [45]. Kon'kov A. S., Pustovalova O. L., Agapov I. I. Biocompatible materials from regenerated silk for tissue engineering and medicinal therapy. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(8), 739–744, Nov. 2010.
- [46]. Boucard N., Viton C., Agay D., Mari E., Roger T., Chancerelle Y., Domard A. The use of physical hydrogels of chitosan for skin regeneration following third-degree burns. *Biomaterials*, 28(24), 3478–88, Aug. 2007.
- [47]. Mizuno K., Yamamura K., Yano K., Osada T., Saeki S., Takimoto N., Sakurai T., Nimura Y. Effect of chitosan film containing basic fibroblast growth factor on wound healing in genetically diabetic mice. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 64(1), 177–81, Jan. 2003.
- [48]. Domard A., Domard M. Chitosan: Structure-properties relationship and biomedical applications. Dumitriu S., editor. *Polymeric Biomaterials*, 2nd ed. Marcel Dekker, inc., 1, 187–212, 2001.
- [49]. Bello Y. M., Falabella A. F., Eaglstein W. H. Tissue-engineered skin. Current status in wound healing. *American journal of clinical dermatology*, 2(5), 305–13, Jan. 2001.
- [50]. Silverstein G. Dermal regeneration template in the surgical management of diabetic foot ulcers: a series of five cases. *The Journal of foot and ankle surgery*. 45(1), 28–33, 2006.
- [51]. Wood F., Stoner M., Fowler B., Fear M. 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, Sep. 2007.
- [52]. Zhang L., Webster T. J. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*, 4(1), 66–80, Feb. 2009.
- [53]. McCullen S. D., Ramaswamy S., Clarke L. I., Gorga R. E. Nanofibrous composites for tissue engineering applications. Wiley interdisciplinary reviews. *Nanomedicine and nanobiotechnology*, 1(4), 369–90, 2009.
- [54]. Griffith L. G. Emerging design principles in biomaterials and scaffolds for tissue engineering. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 961, 83–95, Jun. 2002.
- [55]. Griffith L. G., Swartz M. A. Capturing complex 3D tissue physiology in vitro. Nature reviews. *Molecular cell biology*, 7(3), 211–24, Mar. 2006.
- [56]. Li W.-J., Cooper J. A., Mauck R. L., Tuan R. S. Fabrication and characterization of six electrospun poly(alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta biomaterialia*, 2(4), 377–85, Jul. 2006.
- [57]. Seitz H., Rieder W., Irsen S., Leukers B., Tille C. Three-dimensional printing of porous ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 74(2), 782–8, Aug. 2005.
- [58]. Li M., Mondrinos M. J., Gandhi M. R., Ko F. K., Weiss A. S., Lelkes P. I. Electrospun protein fibers as matrices for tissue engineering. *Biomaterials*, 26(30), 5999–6008, Oct. 2005.
- [59]. Chen H., Li X., Du Y. 1D–3D Nano-Engineered Biomaterials for Biomedical Applications, in Integrated Biomaterials for Biomedical Technology. Ramalingam M., Tiwari A., Ramakrishna S., Kobayashi H., Eds. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012.
- [60]. Zhang L., Webster T. J. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*, 4(1), 66–80, Feb. 2009.
- [61]. De Coppi P., Bartsch G., Siddiqui M. M., Xu T., Santos C. C., Perin L., Mostoslavsky G., Serre A. C., Snyder E. Y., Yoo J. J., Furth M. E., Soker S., Atala A. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nature biotechnology*, 25(1), 100–6, Jan. 2007.
- [62]. Fong C. Y., Peh G. S. L., Gauthaman K., Bongso A. Separation of SSEA-4 and TRA-1-60 labelled undifferentiated human embryonic stem cells from a heterogeneous cell population using magnetic-activated cell sorting (MACS) and fluorescence-activated cell sorting (FACS). *Stem cell reviews*, 5(1), 72–80, Mar. 2009.
- [63]. Qi H., Du Y., Wang L., Kaji H., Bae H., and Khademhosseini A. Patterned differentiation of individual embryoid bodies in spatially organized 3D hybrid microgels. *Advanced materials*, 22(46), 5276–81, Dec. 2010.
- [64]. Shao L., Wu W.-S. Gene-delivery systems for iPS cell generation. *Expert opinion on biological therapy*, 10(2), 231–42, Feb. 2010.

- [65]. Stephan M. T., Irvine D. J. Enhancing Cell therapies from the Outside In: Cell Surface Engineering Using Synthetic Nanomaterials. *Nano today*, 6(3), 309–325, Jun. 2011.
- [66]. Chai C., Leong K. W. Biomaterials approach to expand and direct differentiation of stem cells. *Molecular therapy*, 15(3), 467–80, Mar. 2007.
- [67]. Terrovitis J. V., Smith R. R., Marbán E. Assessment and optimization of cell engraftment after transplantation into the heart. *Circulation research*, 106(3), 479–94, Feb. 2010.
- [68]. Wan A. C. A., Ying J. Y. Nanomaterials for in situ cell delivery and tissue regeneration. *Advanced drug delivery reviews*, 62(7–8), 731–40, Jun. 2010.
- [69]. Burgess P., Hutt P. B., Farokhzad O. C., Langer R., Minick S., Zale S. On firm ground: IP protection of therapeutic nanoparticles. *Nature biotechnology*, 28(12), 1267–70, Dec. 2010.
- [70]. Wang Y., Wong L. B., Mao H. Creation of a long-lifespan ciliated epithelial tissue structure using a 3D collagen scaffold. *Biomaterials*, 31(5), 848–53, Feb. 2010.
- [71]. Cai K., Yao K., Lin S., Yang Z., Li X., Xie H., Qing T., Gao L., Poly(D,L-lactic acid) surfaces modified by silk fibroin: effects on the culture of osteoblast in vitro. *Biomaterials*, 23(4), 1153–60, Feb. 2002.
- [72]. Chiarini A., Petrini P., Bozzini S., Dal Pra I., Armato U., Silk fibroin/poly(carbonate)-urethane as a substrate for cell growth: in vitro interactions with human cells. *Biomaterials*, 24(5), 789–99, Feb. 2003.
- [73]. Xu W., Zhou F., Ouyang C., Ye W., Yao M., Xu B. Mechanical properties of small-diameter polyurethane vascular grafts reinforced by weft-knitted tubular fabric. *Journal of biomedical materials research*. Part A, 92(1), 1–8, Jan. 2010.
- [74]. Chen X., Qi Y.-Y., Wang L.-L., Yin Z., Yin G.-L., Zou X.-H., Ouyang H.-W. Ligament regeneration using a knitted silk scaffold combined with collagen matrix. *Biomaterials*, 29(27), 3683–92, Sep. 2008.
- [75]. Chen G., Sato T., Ohgushi H., Ushida T., Tateishi T., Tanaka J. Culturing of skin fibroblasts in a thin PLGA-collagen hybrid mesh. *Biomaterials*, 26(15), 2559–66, May 2005.
- [76]. El-Ghalbzouri A., Lamme E. N., Van Blitterswijk C., Koopman J., Ponc M. The use of PEGT/PBT as a dermal scaffold for skin tissue engineering. *Biomaterials*, 25(15), 2987–96, Jul. 2004.
- [77]. Schroeder A., Goldberg M. S., Kastrup C., Wang Y., Jiang S., B. Joseph J., Levins C. G., Kannan S. T., Langer R., Anderson D. G. Remotely activated protein-producing nanoparticles. *Nano letters*, 12(6), 2685–9, Jun. 2012.
- [78]. Choi S., Kim W. Treatment pulse application for magnetic stimulation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Article ID 278062, 6 pages. 2011.
- [79]. Karussis D., Karageorgiou C., Vaknin-Dembinsky A., Gowda-Kurkalli B., Gomori J. M., Kassis I., Bulte J. W. M., Petrou P., Ben-Hur T., Abramsky O., Slavin S. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Archives of neurology*, 67(10), 1187–94, Oct. 2010.
- [80]. Liao S., Chan C. K., Ramakrishna S. Electrospun nanofibers: Work for medicine? *Frontiers of Materials Science in China*, 4(1), 29–33, Jan. 2010.
- [81]. Wray P. 'Cotton candy' that heals. *American Ceramics Society Bulletin*, 90, 25–29, 2011.
- [82]. Lavik E., Von Recum H. The role of nanomaterials in translational medicine. *ACS nano*, 5(5), 3419–24, May 2011.