

B IOMATERIAIS APLICADOS AO
DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS
TERAPÊUTICOS AVANÇADOS

B IOMATERIALES APLICADOS
AL DISEÑO DE SISTEMAS
TERAPÉUTICOS AVANZADOS

Hermínio C. de Sousa
Mara E. M. Braga
Alejandro Sosnik
(editores)

**CAPÍTULO 6. INGENIERÍA DE TEJIDOS:
SUSTITUTOS ARTIFICIALES PARA USO EN PIEL Y
MUCOSA ORAL**

Marta R. Fontanilla, Edward Suesca, Sergio Casadiegos

*Grupo de Trabajo en Ingeniería de Tejidos, Laboratorio 318, Departamento de Farmacia,
Universidad Nacional de Colombia. Avda Carrera 30 # 45-03, Bogotá, Colombia.*

Resumen:

En el mundo la investigación y desarrollo de tejido artificial ha crecido rápidamente en las dos últimas décadas. Al igual que el injerto de tejido natural, el objetivo del injerto de tejido artificial es promover la formación de tejido morfológica y funcionalmente similar al perdido. Aunque el uso de tejidos artificiales no evita totalmente la cicatrización fibrótica y la contractura, en muchos casos su aplicación ha contribuido a mejorar los resultados del cierre de heridas de piel o mucosa oral. En los países Latinoamericanos las ventajas y desventajas del tratamiento de heridas de piel y de mucosa oral con tejidos artificiales son conocidas solamente por el grupo reducido de científicos que investigan en el tema y por los pocos clínicos interesados en su aplicación. Por esta razón, es importante divulgar los principios básicos de la ingeniería de tejidos, los sustitutos de piel y mucosa oral producidos con ésta tecnología así como los beneficios y perjuicios de su aplicación clínica. Éste capítulo revisa el origen de los tejidos artificiales, algunos fundamentos biológicos de la ingeniería de tejidos, sustitutos de piel y mucosa oral aprobados para uso humano y las indicaciones de su aplicación clínica.

Palabras clave: Sustitutos de tejido; tejido artificial; sustitutos de piel; sustitutos de mucosa oral; ingeniería de tejidos; medicina regenerativa.

Abstract:

Research in developing artificial tissue has emerged during the two last decades around the world. In the same manner that surgical grafting of natural tissue, artificial tissue grafting aims to promote the replacement of lost tissue by one that has similar morphology and function. Artificial tissue does not completely prevent fibrotic scarring and wound contracture. However, in many cases its use has proved to result in better healing. Currently, in the Latin America region the advantages and disadvantages of skin and oral wound therapies based on grafting artificial tissue are only known by a reduced group of scientists working in the field and by the few clinicians willing to use them. For that reason, it is important to inform on skin and oral mucosa tissue engineered products and the advantages and disadvantages of applying them. This chapter surveys the origin of artificial tissue manufacturing, some biological bases of tissue engineering, skin and oral mucosa tissue substitutes approved for human use, and their clinical application.

Keywords: Tissue substitutes; artificial tissue; skin substitutes; oral mucosa substitutes; tissue engineering; regenerative medicine.

6.1. Reseña histórica de la ingeniería de tejidos

La creación de órganos y tejidos *in vitro* para uso humano y animal, hoy es posible gracias a la confluencia de las ciencias básicas, biomédicas y las ingenierías en una nueva disciplina: la ingeniería de tejidos. Su origen está asociado con la búsqueda de fuentes alternativas de tejido, ocasionada por la escasez de material para injerto en pérdidas de continuidad de la piel. De hecho, fueron los resultados de los tratamientos clínicos que aplicaron los sustitutos de piel principalmente en quemaduras, los que rápidamente impulsaron el desarrollo de sustitutos de otros tejidos y órganos. Hoy se reconoce que la ingeniería de tejidos al proporcionar sustitutos con características funcionales y morfológicas similares a las de los órganos y tejidos naturales, puede ser una fuente alternativa de material para implante cuando hay escases de donantes.

El órgano más grande del cuerpo es la piel, barrera protectora que impide la deshidratación y la infección; de ahí que, su pérdida pueda llegar a ser fatal. Por eso, una vez se contó en los años 70 con la metodología para cultivar *in vitro* láminas epiteliales estratificadas a partir de queratinocitos aislados de biopsias de piel humana [1], sus sustitutos fueron los primeros en ser investigados y desarrollados. Las láminas de queratinocitos humanos, fueron los primeros tratamientos basados en células cultivadas *in vitro* que se utilizaron para tratar pacientes quemados [2, 3]. Sin embargo, debido a la fragilidad y variabilidad en la integración de estas láminas epiteliales a los diferentes tipos de herida, se hizo evidente la necesidad de buscar nuevas aproximaciones.

Reconociendo la importancia del componente dérmico de la piel, John Burke y Ioanis Yannas desarrollaron un reemplazo dermal compuesto por un soporte biodegradable de colágeno I y glicosaminoglicanos (GAGs), cubierto por una membrana delgada de silicona diseñada para controlar la pérdida de fluidos y la entrada de microorganismos. Este producto fue evaluado con éxito en un ensayo clínico que incluyó 10 pacientes con quemaduras severas [4] y en 1996 fue aprobado con el nombre de Integra® por la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA), como template de regeneración dérmica para el tratamiento de quemaduras

que comprometieran la vida [5]. En trabajos paralelos dirigidos por Eugene Bell del Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT), se desarrolló un equivalente de piel conformado por epitelio y dermis, el cual originalmente se denominó Graftskin [6]. En el año 2000 este producto fue autorizado por la FDA [7], para ser usado en el tratamiento de úlceras de piel de diferente etiología; se denomina Apligraf® y es elaborado y distribuido por la compañía norteamericana Organogenesis.

La investigación en el desarrollo de otros órganos, fue iniciada por Joseph Vacanti y Robert Langer a mediados de los años 80. Estos investigadores fueron los primeros en diseñar y elaborar soportes de materiales sintéticos biocompatibles y biodegradables, con propiedades químicas y físicas que se podían manipular para permitir el crecimiento y diferenciación celular requeridos para obtener tejido vivo en el laboratorio [8].

La aplicación de los principios de la ingeniería en el diseño y construcción de tejidos vivos empezó a consolidarse en un encuentro de la Sociedad Nacional para la Ciencia de los Estados Unidos (National Science Foundation-NSF), realizado en Octubre de 1987. Allí, se utilizó el término ingeniería de tejidos para referirse a una nueva actividad interdisciplinaria cuyo fin era crecer órganos o tejidos a partir de células tomadas de un individuo [9]. En 1988 la NSF hizo otro encuentro, hoy conocido como el “Granlibakken Workshop” en el que se definió a esta disciplina como “la aplicación de los principios y métodos de la ingeniería y las ciencias de la vida para entender los fundamentos de las relaciones estructura-función en tejidos mamíferos normales y patológicos y para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan o mejoren la función de los tejidos” [10].

La definición de ingeniería de tejidos que conocemos fue universalizada en un resumen escrito por Robert Langer y Joseph P Vacanti, en el que se estableció que “La ingeniería de tejidos es un campo interdisciplinario que aplica los principios de la ingeniería y de las ciencias de la vida para el desarrollo de sustitutos biológicos que restauren, mantengan y mejoren la función de un tejido” [11]. Hasta el momento, el paradigma central de la ingeniería de tejidos sigue siendo la posibilidad de obtener tejido nuevo a partir de células vivas y soportes tridimensionales, con características similares a las que exhiben los tejidos u órganos que se quieren sustituir.

El creciente interés en la ingeniería de tejidos condujo a que en 1992 en un simposio de la Universidad de California, Los Ángeles (UCLA), se definieran sus metas, como: i) Proveer partes del cuerpo y prótesis celulares; ii) Proporcionar reemplazos acelulares que puedan inducir regeneración; iii) Suministrar tejidos o modelos de órganos para investigación básica; iv) Aportar vehículos para la entrega de células modificadas genéticamente; v) Cubrir superficies no biológicas [12]. Posteriormente en el año 2001, en el simposio “Creciendo Órganos y Tejidos” organizado por los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (NIH), se mencionó que “La medicina reparativa, algunas veces llamada medicina regenerativa o ingeniería de tejidos, es la regeneración y remodelamiento de los tejidos *in vivo* con el propósito de reemplazar, mantener o aumentar la función de un órgano, y la ingeniería y crecimiento de sustitutos de tejido funcionales *in vitro* para su implantación *in vivo* como sustituto biológico de órganos y tejidos enfermos”. Esta definición de medicina reparativa tomó los conceptos de ingeniería de tejidos establecidos en el “Granlibakken Workshop” y los hizo sinónimos de la medicina regenerativa; sin embargo, el término medicina reparativa rápidamente cayó en desuso.

En las últimas décadas los estudios en células madre o troncales y su aplicación terapéutica, la ingeniería de tejidos y muchas otras disciplinas científicas, han confluído en el campo de la medicina regenerativa. Sin embargo, muchos científicos todavía consideran que la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa son equivalentes, por eso, es importante aclarar su diferencia. El objetivo general de la ingeniería de tejidos es construir órganos y tejidos a partir de soportes, células y señales fisicoquímicas del ambiente (medios de cultivo, lecho de la herida, etc.). Por otra parte, el objetivo general de la medicina regenerativa es estimular la regeneración de órganos y tejidos con componentes bioactivos que pueden ser, o no, productos de ingeniería de tejidos [13]. En razón a lo anterior, la medicina regenerativa es considerada como un área multidisciplinaria en la que confluyen saberes provenientes de campos diversos como ingeniería de tejidos, medicina de trasplantes, biomateriales, ciencias biológicas, ciencias básicas e ingenierías.

6.2. Reparación y regeneración

Cuando un órgano o tejido de un individuo se daña o lesiona, se activa un proceso inflamatorio que inicia la respuesta fisiológica encargada de reconstruir la arquitectura y función de la zona afectada. Dependiendo del tejido u órgano, el cuerpo responde restaurando al tejido perdido con dos procesos que conducen a desenlaces muy diferentes: regeneración o reparación [14].

En la regeneración, los tejidos u órganos son reemplazados por unos idénticos, morfológica y funcionalmente, a los originales. Dentro de los vertebrados, las familias del orden *Caudata* son capaces de regenerar en razón a que poseen la capacidad de dediferenciar sus células y hacer morfogénesis durante toda su vida [15]. Conocidos como salamandras, estos anfibios regeneran espontáneamente sus extremidades, cola y muchos de sus órganos después de que han sufrido un daño. Cuando cierran una lesión, en el sitio afectado se forma un conglomerado de células dediferenciadas denominado blastema. Las células del blastema, mantienen memoria de sus tejidos de origen y tienen la capacidad de remodelar extensivamente la matriz extracelular lesionada, reemplazándola por tejido con las mismas características del original [16, 17]. Ahora bien, aunque los mamíferos conservan el potencial de regenerar [18, 19], antes de nacer dejan de regenerar espontáneamente la mayoría de los tejidos [20-22]. Sin embargo, mantienen el recambio permanente de tejidos epiteliales y óseos debido a la presencia de poblaciones de células madre, también conocidas como células trocales, que al dividirse asimétricamente generan poblaciones diferenciadas del linaje celular requerido y poblaciones de células madre que se auto renuevan [19].

La reparación ocurre cuando la respuesta al daño desemboca en la formación de cicatriz. Aunque depende de la interacción dinámica de todos los elementos que forman el tejido: matriz extracelular, células sanguíneas, células del lecho de la herida y mediadores solubles producidos por ellas [23], conduce a la formación de áreas cicatrízales en las que predominan el tejido fibroso y la contracción [24, 25]. El producto de éste proceso es un tejido disfuncional, morfológicamente

diferente al tejido original y con menor elasticidad y resistencia a la tensión.

La reparación puede ser intervenida para disminuir sus efectos negativos. Una forma de lograrlo es modular la inflamación, pues ha sido demostrado que en ausencia de células inflamatorias (Neutrófilos y macrófagos) la reparación ocurre con poca cicatrización [26]. Otra, es suministrar células con la capacidad de recrear la complejidad de las señales biológicas que promueven la regeneración en lugar de la reparación. El uso de soportes bioactivos también puede inducir la regeneración, proporcionando señales mecánicas, microestructurales, químicas, etc., que estimulan la capacidad regeneradora de las células [12].

El estudio de la participación de las células madre o troncales y de las células progenitoras en el cierre de heridas, sugiere que cuando ocurre un daño el balance entre reparación o regeneración determina cuál de estos dos procesos predomina [20]. Los productos exitosos de ingeniería de tejidos y medicina regenerativa inducen mecanismos regenerativos que conducen a mejorar la cicatrización (ver Figura 6.1).

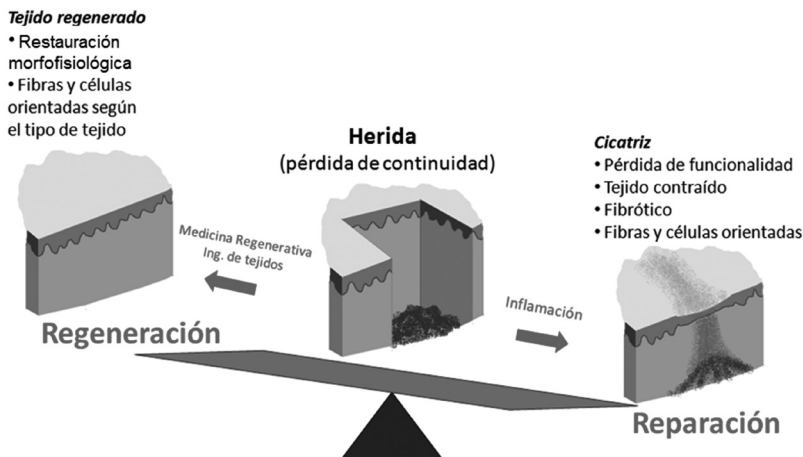


Figura 6.1. Papel de la Ingeniería de Tejidos y de la Medicina Regenerativa en la curación de lesiones de órganos y tejidos. Cuando son utilizados para el tratamiento de lesiones de tejidos que cicatrizan con contracción, los productos de ingeniería de tejidos y otras aproximaciones de la medicina regenerativa favorecen los procesos regenerativos en lugar de los procesos reparativos.

6.3. Tratamiento convencional de pérdidas de continuidad de piel y mucosa oral

Tradicionalmente, los órganos y tejidos que dejan de funcionar debido a una lesión son tratados quirúrgicamente. Cuando el procedimiento quirúrgico empleado utiliza tejido del mismo paciente para reconstruir una lesión, se denomina autotrasplante y el tejido trasplantado autoinjerto [27]. En el caso de las heridas de piel y de mucosa oral, el tratamiento más seguro y efectivo es el autoinjerto del mismo tipo de tejido; sin embargo, la limitación de áreas donantes y la morbilidad que se causa en ellas al tomar el tejido han restringido su aplicación. Para superar este inconveniente, los cirujanos acuden al autoinjerto de tejido diferente al perdido. Por ejemplo, la mucosa oral ha sido utilizada para la reparación de mucosa conjuntival del ojo [28], cirugía reconstructiva orofaríngea [29], reconstrucción de defectos vaginales y uretroplastia [30, 31]; del mismo modo, la piel y mucosa intestinal han sido usadas para injertar lesiones de mucosa oral [32]. El inconveniente principal de esta aproximación es que el tejido transferido retiene sus características originales y las expresa en el área injertada; por eso, aparecen anexos y vellosidades en regiones de mucosa oral injertadas con piel [33]. El trasplante de células, tejidos u órganos entre miembros de la misma especie se denomina alotrasplante y el material trasplantado trasplante alogénico, aloinjerto u homoinjerto. En el mundo, los homoinjertos son los procedimientos más utilizados, ya que el trasplante de órganos completos (riñón, pulmón, corazón, hígado, páncreas, etc.) y de médula ósea son tratamientos de uso frecuente. La fuente de los homoinjertos son donantes humanos vivos o cadavéricos; por esta razón, las mayores desventajas del alotrasplante, además de la falta de donantes, son la transmisión de agentes infecciosos no detectados durante la donación y el rechazo inmunológico que obliga a la inmunosupresión permanente [34]. El tratamiento de lesiones de piel y mucosa oral con homoinjertos, se ha visto favorecido por el desarrollo de técnicas de descelularización que eliminan el componente celular del tejido dejando intacta, en composición y estructura, su matriz extracelular. La eliminación de las

células, hace que el tejido descelularizado no sea rechazado y evita la administración de medicamentos supresores de la respuesta inmune del organismo receptor [35].

Gracias a su baja inmunogenicidad, capacidad de reducir la respuesta inflamatoria y actividad pro-epitelizante, la membrana amniótica es ampliamente empleada como homoinjerto o como cobertura en lesiones de la superficie ocular y en lesiones de piel [36, 37]. En 1910, se hizo su primera aplicación como trasplante de piel y en 1940 comenzó a usarse para la reparación de defectos conjuntivales [38]; hoy se sigue empleando con estas indicaciones y en reconstrucción ginecológica [39, 40], urológica [41] y para el tratamiento de úlceras venosas [42]. Además de ser un material conductor efectivo en la regeneración de nervios periféricos [43], es considerada una fuente importante de células madre para terapias regenerativas de diferentes tejidos [44].

El trasplante de células, tejidos u órganos entre especies diferentes, es conocido como xenotrasplante y el material trasplantado se denomina xenoinjerto, que al igual que los homoinjertos, inducen rechazo inmunológico y pueden ser portadores de agentes infecciosos. Su utilización ha sido promovida por las técnicas de descelularización, empleadas para obtener soportes de composición y microestructura similar a las de los tejidos naturales. Este hecho y el procesamiento de la matriz descelularizada resultante para eliminar completamente el antígeno α -Gal, expresado en células de animales diferentes a los primates y el humano, han permitido disminuir la respuesta inmune del receptor al xenoinjerto [45]. Actualmente, la especie porcina es la más empleada como fuente de xenoinjertos de válvulas cardíacas, piel, hueso y submucosa intestinal [46].

6.4. Aproximaciones investigativas y terapéuticas en ingeniería de tejidos y medicina regenerativa

Aunque los primeros autoinjertos de piel conocidos fueron realizados por Sushruta, considerado el primer cirujano plástico de la historia, en la India hace más de 2400 años [47], existen registros de su uso en Europa

desde el siglo XV. En la actualidad, los autoinjertos de piel y mucosa, son los tratamientos más empleados para restaurar la continuidad perdida. Sin embargo, la limitación de tejido disponible para injerto es uno de los mayores obstáculos que enfrenta la realización de éste procedimiento. La elaboración de tejido propuesta por la ingeniería de tejidos constituye una alternativa cada vez más real; por eso, uno de sus mayores desafíos es desarrollar sustitutos que al ser aplicados permitan la regeneración de las zonas u órganos tratados [48].

En general, las estrategias terapéuticas más empleadas por la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa para inducir regeneración de piel, mucosa y otros órganos y tejidos, se pueden clasificar en cinco grandes grupos:

- Soportes o matrices acelulares naturales o artificiales que actúan como sustitutos acelulares del tejido conectivo;
- Cultivos (mono- o co-cultivos) tridimensionales de células en soportes o matrices que después de su incubación producen tejido;
- Láminas celulares;
- Terapias celulares basadas en la aplicación directa de células (madre o trocales, progenitoras y diferenciadas), en la zona tratada;
- Aplicación directa o mediante el uso de sistemas de liberación de factores puros (factores de crecimiento, citoquinas, quimoquinas, etc), factores presentes en medios condicionados o en el plasma rico en plaquetas

Los componentes principales de las estrategias mencionadas son los soportes, las células, combinaciones de células con soportes y factores con actividad auto y paracrina secretados por estas. Por esta razón, a continuación haremos una breve descripción de cada uno de ellos:

Soportes: Son estructuras tridimensionales hechas de materiales biocompatibles y biodegradables, que facilitan la adhesión, crecimiento y diferenciación celular que se necesita para formar nuevo tejido. Su composición y su estructura (a nivel macro, micro y nano), señalizan

mecánica y molecularmente a las células que contienen y/o a las células presentes en el sitio intervenido sin inducir efectos indeseados locales o sistémicos en el paciente [49-51]. Los soportes para ingeniería de tejidos se hacen con materiales naturales (colágeno, fibrina, ácido hialurónico, alginato, etc.), sintéticos (ácido poliglicólico, ácido poliláctico, ácido poliláctico-poliglicólico) y tejidos descelularizados (dermis y submucosa intestinal descelularizados). Dependiendo de sus características microestructurales, proporcionan rutas migratorias a las células provenientes del lecho de la herida, permiten la adhesión y proliferación celular y señalizan para que las células secreten factores con actividad autocrina y paracrina [52]; por eso, son considerados como análogos de la matriz extracelular [53]. La evidencia ha demostrado que cuando se implantan, dependiendo de su bioactividad, pueden promover la regeneración o la reparación [54].

En humanos los soportes sin células se utilizan en el tratamiento de lesiones pequeñas. Conductos como la uretra, se han reconstruido quirúrgicamente colocando soportes obtenidos de submucosa de vejiga porcina entre las dos porciones sanas de tejido circundante a la lesión, con el fin de permitir que células del tejido sano migren, lo pueblen y lo remodelen [55, 56]. Se afirma que el éxito de esta aproximación está limitado por el tamaño de la lesión, ya que independientemente del biomaterial que se utilice, lesiones mayores a 1 cm no regeneran con facilidad [57].

La validez del valor del tamaño crítico a partir del cual una lesión de piel deja de regenerar, depende del tipo de tejido lesionado, de la naturaleza de la lesión y del tratamiento que reciba. Actualmente, se considera que heridas de espesor total de piel mayores a 1 cm de diámetro requieren injertos de piel para prevenir la formación excesiva de cicatrices; igualmente, que los injertos disponibles no promueven la regeneración completa en las lesiones en que se aplican [58]. De hecho, nuestro grupo ha usado en pacientes con consentimiento informado, soportes de colágeno tipo I en heridas de piel (de espesor parcial y total, agudas y crónicas) de tamaños mayores, que a pesar de cerrar con buenos resultados no muestran regeneración completa (ver Figura 6.2).

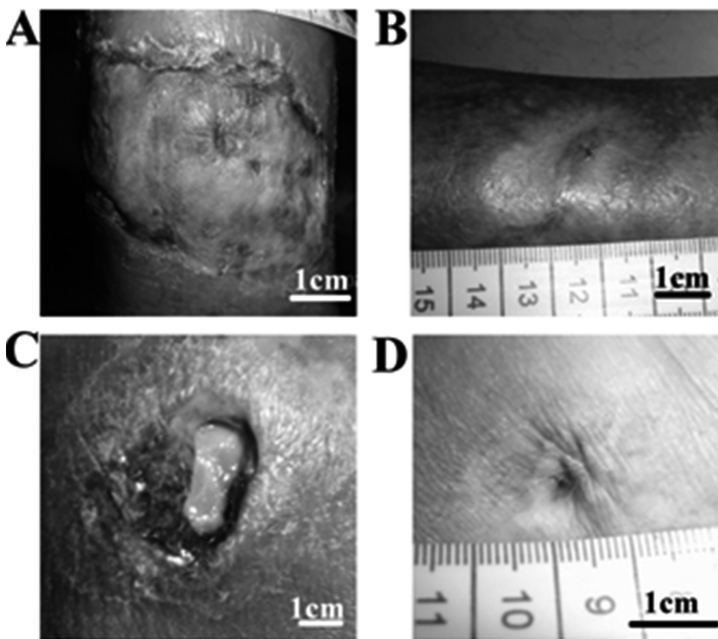


Figura 6.2. Soportes de colágeno I para el tratamiento de pérdidas de continuidad de la piel. Se muestran dos pacientes, antes y después de haber recibido tratamiento. Úlcera venosa crónica en miembro inferior en paciente de edad avanzada (A); imagen de la zona tratada con soportes de colágeno a los 11 meses, en donde se observa cierre total de la lesión (B); úlcera por presión (grado IV/VI) en región trocantérica en paciente de edad avanzada (C); aspecto del área lesionada luego de 5 meses de tratamiento del paciente postrado en cama (D).

Soportes sembrados con células: Las propiedades mecánicas y funcionales de los soportes mejoran, cuando en ellos se siembran células [59]. Generalmente, las células son aisladas del tejido que se quiere reemplazar, por disgregación enzimática o a partir de pequeñas fracciones del tejido denominadas explantes. Después de sembrar las células en los soportes e incubar, se obtiene tejido nuevo gracias a la síntesis de proteínas de matriz extracelular y al recambio que estas hacen del biomaterial del soporte. Luego, cuando el tejido es injertado en la lesión, éste también es degradado y reemplazado por tejido regenerado [60].

El desarrollo de tejidos artificiales ha avanzado mucho más rápido que el de órganos, debido a que la estructura tridimensional de estos últimos es más compleja y requieren vascularización [61]. Sin embargo, el

principio de sembrar las células en soportes tridimensionales y cultivar en medios que proporcionen los nutrientes y estímulos necesarios para su crecimiento y diferenciación, se mantiene. El primer órgano hueco construido *in vitro* y evaluado clínicamente fue la vejiga. El ensayo clínico se realizó con siete pacientes con mielomeningocele, entre los 4 y los 19 años de edad, que requerían cistoplastia. A cada uno de ellos se le tomó una biopsia de la vejiga con el fin de aislar células uroteliales y de musculatura lisa, las cuales fueron cultivadas durante cuatro semanas con el propósito de aumentar la población. Basados en información proporcionada por imágenes diagnósticas de los pacientes, se dieron forma a soportes de diferente naturaleza (Submucosa de vejiga homóloga descelularizada, colágeno tipo I o colágeno-ácido poliglicólico), luego estos soportes fueron sembrados en su interior con las células uroteliales y en su exterior con las células musculares. Después de incubar durante un mes, las vejigas artificiales obtenidas fueron trasplantadas con éxito en las personas tratadas [62].

Láminas celulares: Además de servir como sustitutos de piel, se han empleado láminas de queratinocitos estratificados como sustitutos de mucosa oral en estudios preclínicos y clínicos [63, 64] y en modelos celulares utilizados en pruebas de biocompatibilidad [65], investigación en biología oral [66, 67] y estudio de la cicatrización de heridas [68]. Como sustitutos de piel y mucosa, las láminas epiteliales pueden ser difíciles de manipular debido a su fragilidad; la cual, también resulta en formación de ampollas y rasgaduras del injerto. Aunque en sus comienzos las láminas celulares fueron obtenidas sembrando células epiteliales disgregadas enzimáticamente de los tejidos de origen, hoy se pueden elaborar láminas celulares sembrando células sobre superficies cubiertas con polímeros inteligentes, que responden a cambios de temperatura. Después de que las células crecen y forman monocapas confluentes, estas se pueden desprender bajando la temperatura del cultivo sin necesidad de usar enzimas que pueden afectar su integridad. Esta tecnología, denominada ingeniería de láminas celulares, ha permitido elaborar multicapas de queratinocitos, fibroblastos, condrocitos y mioblastos sin necesidad de emplear soportes.

El grupo japonés pionero de la tecnología de láminas celulares, liderado por Teruo Okano, demostró que organizaciones tridimensionales de multicapas de cardiomiocitos transmiten el impulso eléctrico que les permite latir simultáneamente [69]. Co-cultivos laminares de células endoteliales sobre láminas de fibroblastos, al ser evaluados en un modelo murino de infarto de miocardio promovieron la regeneración cardíaca [70] y el trasplante de capas de láminas de mioblastos autólogos en un hombre de 56 años con una cardiomiopatía dilatada, enfermedad del músculo cardíaco que conduce a la falla cardíaca, logró que el paciente no volviera a presentar arritmia después del tratamiento [71]. También, se han producido láminas de epitelio corneal para colocar directamente sobre la córnea que no necesitan suturarse [72]. Aunque muchas de las iniciativas desarrolladas por el grupo de Okano para tratar diversas patologías con cultivos de láminas celulares están siendo evaluadas preclínicamente y su aplicación en humanos sigue siendo limitada, este método puede llegar a ser una alternativa para promover la regeneración de tejidos y órganos dañados. Como todos los productos de ingeniería de tejidos, necesita enfrentar la aplicación clínica para establecer sus verdaderos alcances y limitaciones.

Terapia celular: La aplicación de células solas sobre las lesiones con el fin de promover la regeneración de tejido perdido o dañado, constituye la base de la terapia celular. Las células pueden ser indiferenciadas (células madre de diferentes orígenes) o células diferenciadas constituyentes del tejido que se quiere regenerar [62, 73, 74]; las células madre se utilizan debido a que al ser cultivadas *in vitro* en condiciones apropiadas, pueden ser inducidas a diferenciarse al tipo celular requerido [75]. Dependiendo de su potencialidad, las células madre se clasifican en: totipotentes, capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares de un organismo adulto, formar los tejidos extraembrionarios y por ende de crear un organismo completo; pluripotentes, capaces de formar todos los tipos celulares de un organismo adulto y en consecuencia, de crear tejidos de las tres capas embrionarias (Endodérmico, mesodérmico y exodérmico); multipotentes, capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares presentes en un tejido; unipotentes, presentes en algunos tejidos

que contienen un solo tipo de células madre, capaces de diferenciarse en un solo tipo celular [76, 77]. Las células unipotentes con frecuencia son consideradas como células progenitoras, sin embargo, ha sido sugerido que esta denominación se aplique a las células que han dejado de ser madre y aún conservan capacidad proliferativa y de mayor diferenciación [78]. Las células madre totipotentes se encuentran en el cigoto; las multipotentes en el blastocisto, epiblasto, embrión tardío/feto temprano; mientras que, las multipotentes y unipotentes constituyen las células madre del adulto, presentes en tejidos maduros.

En terapia celular también se ha evaluado la posibilidad de usar células madre pluripotentes obtenidas por dediferenciación de células somáticas adultas (Induced pluripotent stem cells- iPSC) [79, 80]. Las primeras iPSC fueron derivadas de células de ratón [81]; en el 2012 el Premio Nobel en Fisiología o Medicina, fue otorgado a Shinya Yamanaka y John B. Gurdon por el descubrimiento de que las células diferenciadas se pueden reprogramar para que se dediferencien y se conviertan en pluripotentes.

El primer ensayo clínico de células madre en humanos fue aprobado a la compañía Geron Corporation, por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos en el año 2009 [82]. El estudio clínico fase I, fue diseñado para evaluar la seguridad de inyectar progenitores de oligodendrocitos derivados de células madre embrionarias humanas (hESC) en individuos con lesiones completas de médula espinal grado A, 7 a 14 días después de sufrir la lesión. En el 2011, la compañía informó que después de inyectar dos millones de células en el sitio lesionado no se observaron efectos adversos relacionados con su aplicación. Sin embargo, manifestó la ocurrencia de efectos adversos relacionados con el inmunosupresor administrado después de la terapia celular. Aunque la fecha estimada por la compañía para completar los datos de la evaluación sobre la función neurológica fue octubre de 2012, en noviembre de 2011 se publicó la decisión de esta compañía de no continuar con el estudio clínico, con el fin de enfocarse en su programa de oncológicos [83].

El estudio de Geron Corporation ha sido seguido por otros llevados a cabo en varios países del mundo entre los que se encuentran ensayos clínicos fase I/ fase II de tratamientos basados en células madre

para tratar patologías como diabetes mellitus tipo 1, colitis ulcerativa, cirrosis, síntomas inducidos por anticancerígenos, cardiomiopatía dilatada idiopática, anemia refractaria aplásica severa, neuropatía diabética, lesiones medulares, esclerosis múltiple, tumores del sistema nervioso central, distrofia macular de stargardt, etc. [84]. En Canadá fue aprobado Prochymal® el primer medicamento basado en células madre para uso humano, a la compañía Osiris Therapeutics Inc., en mayo 2012. Es la única terapia de células madre actualmente designada como medicamento huérfano y está indicada en el tratamiento de la enfermedad de injerto contra huésped y en el tratamiento de la enfermedad de Crohn [85, 86].

La sangre de cordón umbilical humana, la aplicación de células diferenciadas solas o sembradas en soportes y de bacterias, también son consideradas por la FDA como terapia celular [87]. Los productos de ésta naturaleza autorizados para uso humano por ésta agencia regulatoria, se describen a continuación:

- **Allocord, HPC cord blood.** SSM Cardinal Glennon Children's Medical Center. Sangre de cordón umbilical; indicada en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de donadores no relacionados.
- **Allogenic Hematopoietic Progenitor Cells, Cord Blood.** Hemacord, New York Blood Center. Sangre de cordón umbilical; indicada en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de donadores no relacionados.
- **Autologous Cellular Immunotherapy.** Provenge (Sipuleucel-T), Dendreon Corporation. Inmunoterapia celular autóloga, indicada para el tratamiento del cáncer de próstata (refractario a hormonas), asintomático o mínimamente asintomático.
- **Autologous Cultured Fibroblasts.** Laviv (Azficel-T), Fibrocell Technologies. Fibroblastos autólogos, indicados para el tratamiento de arrugas nasolabiales moderadas a severas en adultos.
- **Autologous Cultured Chondrocytes.** Carticel, Genzyme BioSurgery. Aprobado por la FDA en 1997, se convirtió en la primera terapia

celular autorizada para uso humano. Son condrocitos autólogos expandidos *in vitro*, que se aplican intraarticularmente en defectos sintomáticos del cartílago del cóndilo femoral cuando los otros tratamientos quirúrgicos de reparación no han dado buenos resultados.

- **BCG Live (Intravesical).** TheraCys, Sanofi Pasteur Limited Lic#1726. Micobacterias atenuadas vivas para aplicación intravesical. El producto está indicada para la profilaxis y tratamiento intravesical de carcinoma in situ de vejiga y para la profilaxis de tumores papilares (Ta/T1) recurrentes o primarios.
- **GINTUIT (Allogenic Cultured Keratinocytes and Fibroblasts in Bovine Collagen).** Fibroblastos y queratinocitos homólogos, sembrados en soportes de colágeno I. Está indicado para aplicación tópica en el lecho vascularizado de heridas mucosas creadas quirúrgicamente.
- **Hematopoietic Progenitor Cell. Ducord, HPC Cord Blood. Duke University School of Medicine.** Sangre de cordón umbilical; indicada en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de donadores no relacionados.
- **HPC, Cord Blood. Clinimmune Labs, University of Colorado Cord Blood Bank.** Sangre de cordón umbilical; indicada en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de donadores no relacionados.
- **HPC, Cord Blood BLA 125432. LifeSouth Community Blood Centers, Inc.** Sangre de cordón umbilical; indicada en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas provenientes de donadores no relacionados.

Medios condicionados: Los medios condicionados son medios provenientes de cultivos celulares o de cultivos de tejido, que contienen las proteínas secretadas por las células. También denominados secretoma, involucran todas las sustancias solubles que las células secretan al medio usado para soportar su proliferación [88]. Están constituidos por factores de crecimiento, enzimas, citoquinas, quimoquinas, etc., los cuales tienen

actividad biológica, ya que median quimiotaxis, inflamación, reposición y remodelación de la matriz extracelular y angiogenesis [60]. Como los medios son producidos por células metabólicamente activas, su composición varía dependiendo de las condiciones empleadas; entre las que se encuentran el tiempo, el tipo de cultivo (Tridimensional vs bidimensional, etc.) y las condiciones ambientales proporcionadas por los medios empleados para cultivar las células [52]. Los desarrollos en este tipo de productos actualmente se centran en liberarlos en el sitio de la herida en concentraciones y tiempos que les permitan ser eficaces, ya que estos factores son muy inestables [89-91].

Estudios de nuestro grupo realizados para determinar la presencia y concentración de factores secretados al medio de cultivo por tejido conectivo elaborado con soportes de colágeno y fibroblastos aislados de mucosa oral, indican variación diaria de la concentración de los factores evaluados. Lo anterior indica que antes de cualquier aplicación terapéutica de los medios condicionados, se deben conocer los factores presentes y su concentración en los medios. Además, es necesario correlacionar estos datos con resultados de estudios preclínicos de su aplicación, en los que se haya tenido en cuenta que el perfil de secreción varía diariamente [92].

6.5. Productos de ingeniería de tejidos de piel y mucosa oral

6.5.1. Sustitutos de piel

Los productos de ingeniería de tejidos que sustituyen a la piel, han sido evaluados en quemaduras severas, reconstrucción de cicatrices y úlceras de extremidades inferiores de diferente etiología. Como ya se mencionó, fueron los primeros tejidos artificiales aprobados para uso humano. Su aplicación reduce los riesgos de infección y ayuda a mejorar la cicatrización, ya que dependiendo de su bioactividad, disminuyen la contracción de la lesión [93]. Constituyen un grupo heterogéneo de

productos que han sido diseñados para reemplazar epitelio, dermis o dermis y epitelio.

Aunque este capítulo se orienta a la ingeniería de tejidos con aplicación clínica, también es importante mencionar que existe una rama de este campo dedicada a desarrollar sustitutos de tejidos que sirvan para estudios de evaluación *in vitro* de diversos compuestos. En piel existen productos como EpiSkin®, SkinEthic® y EpiDerm® que han sido empleados en estudios de fototoxicidad, irritación, corrosividad y transporte de sustancias [94-96]:

Epitelio: Los autoinjertos de láminas de queratinocitos cultivadas *in vitro*, conforman el grupo de sustitutos epiteliales. Se usan como coberturas biológicas de heridas y el único producto de esta naturaleza aprobado por la FDA como dispositivo de uso humanitario, es Epicel®, para el tratamiento de heridas profundas de piel o de heridas de espesor total por quemaduras que comprometen áreas mayores o iguales a 30% de la superficie corporal. Puede ser empleado en combinación con autoinjertos de espesor parcial o solo, cuando estos no pueden ser obtenidos debido a la severidad de las lesiones. Aunque se produce con células aisladas de biopsias de piel del paciente, la FDA lo considera como un xenotrasplante debido a que los queratinocitos son cultivados sobre capas alimentadoras de fibroblastos murinos 3T3, las cuales secretan factores proteicos requeridos por estas células para crecer y formar las láminas epiteliales. El producto está indicado solamente para uso autólogo y entre sus desventajas se encuentran el tiempo prolongado requerido para su manufactura, su fragilidad que puede resultar en el desgarramiento del injerto después de que ha sido colocado y la formación de cicatrices con contracturas [97].

Existe otra aproximación basada en el uso de queratinocitos autólogos, para el tratamiento de pacientes quemados denominada CellSpray® (Desarrollada por Fiona Wood). CellSpray® está siendo usada en el tratamiento de lesiones de piel que comprometen epitelio y en lesiones de espesor parcial. En quemados en los que se ha perdido la dermis, esta técnica solamente puede ser utilizada después de haber

realizado un injerto tradicional con tejido autólogo o con sustitutos artificiales de la dermis. Las células del epitelio son obtenidas a partir de biopsias de espesor parcial de piel tomadas en el momento del procedimiento, las cuales se colocan en un sistema denominado ReCell® kit en el que se lleva a cabo la disgregación enzimática de las células. Al finalizar el proceso, el sistema proporciona un aerosol de una suspensión de queratinocitos y melanocitos la cual se rosea sobre la piel lesionada [98].

Sustitutos de dermis acelulares: Como se mencionó, los sustitutos dérmicos fueron los primeros productos de ingeniería de tejidos aprobados para sustituir la piel. En marzo de 1996, la FDA autorizó la distribución en los Estados Unidos de Integra®, para el tratamiento de quemaduras; en el 2002, se concedió permiso para su uso en cirugías reconstructivas de cicatrices con contracturas [99]. Integra® es una matriz de colágeno bovino y glicosaminoglicanos, cubierta con una capa de silicona semipermeable. Al ser injertada, la matriz de colágeno-GAG es poblada y remodelada por las células que migran del lecho de la herida para producir neodermis. Su uso requiere dos procedimientos quirúrgicos, uno para injertar el producto y otro para remover la capa de silicona no biodegradable, que inicialmente sustituye al epitelio [100].

Otro sustituto de dermis disponible para el tratamiento de quemaduras superficiales y de espesor parcial es Biobrane®, constituido por una película fina de silicona en la que se encuentra parcialmente embebida una malla de nailon enlazada químicamente con colágeno I aislado de dermis porcina [79]. Biobrane®, es una cubierta temporal sugerida para el tratamiento de quemaduras de espesor parcial y de sitios donantes.

AlloDerm® es dermis de donante cadavérico descelerizada, con membrana basal completa, procesada para eliminar todos los componentes celulares responsables del rechazo inmunológico. Al ser injertada proporciona una matriz dérmica natural que promueve angiogénesis, migración celular y recambio tisular. Este producto está indicado en la preparación del lecho de la herida para posteriores injertos y en lesiones distintas a las de piel en las que se necesite promover la formación de tejido blando,

como en la reconstrucción del seno post-mastectomía y en la reconstrucción de la pared abdominal.

Con el advenimiento de técnicas de descelularización de tejidos y órganos, se ha popularizado la utilización de dermis cadavérica y submucosa intestinal de otras especies, especialmente porcinos. Los xeno-sustitutos tienen la ventaja de aportar la estructura característica del tejido natural y de no generar respuesta inmunológica, debido a que carecen de células y a que los tejidos después de ser descelularizados son procesados para eliminar antígenos característicos de otras especies animales como el α -Gal [35]. Utilizando las estrategias mencionadas, se han desarrollado productos que están en el mercado del Reino Unido y los Estados Unidos, como Permacol® y Oasis®. El primero fue aprobado para ser aplicado en el tratamiento de lesiones de cabeza y cuello y el segundo, para el tratamiento de lesiones crónicas de la piel de extremidades inferiores.

Sustitutos de dermis celulares: Este tipo de sustitutos se elaboran sembrando fibroblastos en soportes de biomateriales naturales o sintéticos. El producto más representativo de este grupo es TransCyte®, que en marzo de 1997 recibió aprobación de la FDA para comercialización [101]. Se obtiene sembrando fibroblastos criopreservados de prepucio de neonato en una malla de nailon recubierta con colágeno I, la cual se encuentra unida a una membrana de silicona. Cuando los fibroblastos sembrados proliferan secretan todos los constituyentes de la matriz extracelular que es conservada durante el proceso de congelamiento. Debido a que el nailon que contiene no es biodegradable, es considerado como una cubierta temporal que debe ser removida. Es un producto que por su transparencia permite el monitoreo del lecho de la herida en que se injerta [102].

Sustitutos bicapa (Piel artificial): Hasta el momento, *in vitro* no se ha desarrollado un sustituto de piel que contenga glándulas sebáceas, vellosidades, vasos sanguíneos y todos los tipos celulares presentes en el epitelio y dermis naturales. Existen sustitutos bicapa, conforma-

dos por dermis y epitelio artificial, como Apligraf®; aprobado en los Estados Unidos por la FDA, como dispositivo clase III para el tratamiento de úlceras venosas y úlceras de pie diabético. Es un tejido vivo, que cuenta con una capa dérmica elaborada a partir de fibroblastos homólogos sembrados en un soporte de colágeno tipo I y una capa epitelial, obtenida sembrando queratinocitos sobre la dermis formada. El epitelio es diferenciado y posee estrato córneo; los fibroblastos y los queratinocitos, son aislados de prepucio de neonato [103]. En la Tabla 6.1, se presenta un resumen de algunos de los sustitutos de piel aprobados por la FDA o la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), su composición y aplicación.

6.5.1. Sustitutos de mucosa oral

Las lesiones de mucosa oral cierran más rápido y cicatrizan mejor que las de piel [118, 119]; sin embargo, el tratamiento de daños grandes de la mucosa sin que se origine cicatriz con contracción sigue siendo un desafío [120]. El autoinjerto de mucosa oral de espesor parcial, es el tratamiento ideal; al igual que sucede con la piel, su uso puede verse limitado por el tejido mucoso disponible para injerto. Por esta razón, diferentes productos usados para sustituir mucosa oral han tenido acogida dentro de diferentes especializaciones de la odontología; a continuación se describen los más comunes.

Láminas epiteliales: Los primeros sustitutos evaluados preclínica y clínicamente, fueron las láminas de queratinocitos [63, 64]. Por su fragilidad, difícil manejo y en algunos casos incapacidad de prevenir la contracción y mejorar la cicatrización, han sido desplazadas por productos con mejores propiedades mecánicas, mayor adherencia y bioestabilidad [63, 121]. Hoy en día, el uso más frecuente de las láminas de queratinocitos es en pruebas de biocompatibilidad [122], investigación en biología oral [65, 67, 123] y estudio de la cicatrización de heridas [68].

Tabla 6.1. Productos de ingeniería de tejidos empleados como sustitutos de piel aprobados por agencias regulatorias (FDA y EMA).

Producto	Compañía	Composición	Aplicación Aprobada por FDA
Integra®	Integra Life Science	Soporte de colágeno I bovino y condroitin sulfato, cubierta con una capa de silicona.	Quemaduras y reconstrucción de cicatrices de quemaduras [104]
TransCyte®	Advanced BioHealing	Fibroblastos criopreservados de prepucio de neonato sembrados en una malla de nailon, cubierta con colágeno porcino unida a una membrana de silicona.	Cobertura temporal de heridas de espesor total y de espesor parcial de pacientes quemados antes de hacer un autoinjerto [105]
Epicel®	Genzyme	Láminas de queratinocitos autólogos.	Cobertura permanente de heridas térmicas de espesor total [106, 107]
Dermagraft®	Shire Regenerative Medicine	Fibroblastos de prepucio de neonato sembrados y criopreservados en una malla de poliglactina	Indicado en el tratamiento de úlceras por pie diabético [108]
Apligraf® (Graftskin)	Organogenesis	Soporte de colágeno I bovino, sembrado con fibroblastos y queratinocitos de neonato (Dermis y epidermis)	Tratamiento de úlceras venosas y úlceras neuropáticas de espesor total [93]
AlloDerm®	LifeCell	Dermis de donante cadavérico descelularizada, con membrana basal completa.	Preparación del lecho de la herida para injerto [109, 110]
Permacol™	Tissue Science Laboratories	Dermis porcina descelularizada	Reforzar tejido blando en procedimientos quirúrgicos [111]
OASIS®	Cook Biotech	Submucosa intestinal descelularizada	Heridas de espesor parcial y total, úlceras de diferente etiología, heridas de sitio donante, laceraciones, quemaduras [112]
OrCel®	Forticell Bioscience	Soporte de colágeno I bovino, sembrado con fibroblastos y queratinocitos de neonato (Dermis y epidermis)	Tratamiento de sitios donantes de espesor parcial en pacientes con quemaduras [113]
EpiDex®	Euroderm	Queratinocitos autólogos estratificados provenientes de células progenitoras epiteliales de folículo piloso	Tratamiento de heridas crónicas y áreas de piel despigmentadas [114]
Nevelia	Symatése	Soporte de colágeno I bovino, cubierto con una capa de silicona	Regeneración dérmica en quemaduras, cirugía plástica reconstructiva y traumatología [115]
Matriderm	Skin & Health Care AG	Soporte liofilizado de colágeno I, III y V bovino con elastina	Tratamiento de defectos dermales profundos en combinación con injerto de piel de espesor parcial [116, 117]

Soportes acelulares: Como hemos mencionado, las propiedades mecánicas y funcionales de los sustitutos artificiales de tejido incrementan cuando en su elaboración se utilizan soportes tridimensionales [59]. Dentro de los compuestos naturales empleados para desarrollar sustitutos de mucosa oral se encuentran gelatina, fibrina, quitosan y colágeno;

siendo éste último uno de los más utilizados [60, 124-127]; también, se han usado mezclas de colágeno y glicosaminoglicanos, colágeno y quitosan, colágeno y elastina [128]. Los compuestos de origen sintético más comunes son el ácido poliláctico, el ácido poliglicólico y su mezcla en diferentes porcentajes [129]. También, se conocen combinaciones de materiales de origen natural y sintético, como la mezcla de colágeno y ácido poliláctico y poliglicólico, y la mezcla de benzil éster y colágeno. Dentro de los soportes acelulares se encuentran tejidos animales y humanos descelularizados como la dermis cadavérica (Alloderm® y Puros®), la membrana amniótica y la submucosa intestinal porcina, que son los más utilizados [125, 126, 128, 130].

Tejido conectivo artificial: Se obtiene sembrando fibroblastos orales o de otro origen en soportes de diferentes biomateriales [60, 131-133]. Funciona como reservorio de factores proteicos secretados por las células que contiene, los cuales actúan sobre el componente celular e intervienen en la modulación de procesos que subyacen el cierre de heridas [52, 134, 135]. Los fibroblastos al proliferar y diferenciarse dentro del soporte, recambian la matriz extracelular formando nuevo tejido [136]. El crecimiento de los fibroblastos en los soportes se ve influenciado por el sitio anatómico del cual provienen, el número de pases o subcultivos, la edad del donante, el subtipo de fibroblasto, el tipo de sustrato y la presencia de factores de crecimiento y citoquinas. El tejido conectivo artificial ha sido utilizado como injerto en modelos animales de heridas de espesor parcial [60, 137] y en modelos de heridas muco-perióstica para aumento de tejido conectivo oral [127, 138, 139]. Nuestro grupo de investigación estableció la metodología para obtener tejido conectivo mucoso a partir de fibroblastos orales y soportes de colágeno I. La evaluación preclínica de este tejido, mostró que su utilización en el tratamiento de heridas mucosas que cierran con contractura mejora la cicatrización estimulando la regeneración tisular [52, 60]. Una vez suturado en el lecho de la herida, las células que lo conforman permanecen viables durante las etapas iniciales de la reparación, convirtiéndose en fuente de señales químicas que no exacerban la respuesta inflamatoria, no inducen fibrosis y promueven

la angiogenesis, el recambio y la epitelización de la herida; después, son sustituidas por células provenientes del lecho de la herida [52].

Mucosa oral artificial. Se consideran mucosa oral artificial a los sustitutos bicapa compuestos por tejido conectivo y epitelio estratificado, obtenidos co-cultivando queratinocitos sobre soportes sembrados con fibroblastos [140, 141]. La presencia de fibroblastos estimula la diferenciación epitelial [142] y modula el recambio y la reparación del tejido conectivo [143]. En este tipo de sustitutos también se incluyen aquellos elaborados con soportes acelulares sobre los que se colocan láminas de queratinocitos [74]; el soporte acelular funciona como tejido conectivo ya que facilita la migración de células provenientes de los bordes de la herida, después de haber sido injertado [144-147].

A nivel intraoral la mucosa oral artificial se ha evaluado en estudios pre-clínicos y clínicos, para procedimientos de reconstrucción periodontal y maxilofacial [120, 128, 141, 144, 147-151]. También ha sido usada para la reconstrucción de otros sitios anatómicos del cuerpo, entre los que se encuentran: reconstrucción ocular [152], tratamiento de quemaduras [153] y reconstrucción de defectos uretrales [154]. Hasta el momento, solamente dos sustitutos celulares de mucosa oral han sido reportados y tiene aprobación terapéutica oficial para ser distribuidos comercialmente. Bioseed-M® que consiste en un soporte de fibrina cultivado con células autólogas de mucosa oral [155] y GINTUIT™ compuesto por fibroblastos y queratinocitos homólogos de prepucio de neonato en un soporte de colágeno [156]. Al igual que ocurre con los sustitutos de piel, también se han elaborado sustitutos orales para ser empleados como modelos *in vitro* en estudios de biocompatibilidad y estudios de procesos biológicos como la cicatrización [126].

Tabla 6.2. Tejido oral artificial, aplicación y composición.

Aplicación	Soporte	Tipo celular	Ref.
Modelo para estudios <i>in vitro</i>	Malla de nylon	Fibroblastos y queratinocitos orales	[163]
	Filtros de policarbonato	Línea celular oral TR146	[160]
	Membrana de colágeno	Queratinocitos orales	[164]
	Colágeno de piel bovina	Queratinocitos orales	[165]
	Membrana de colágeno	Queratinocitos orales	[66, 166, 167]
Para uso clínico (en estado de evaluación pre-clínica)	Gel de colágeno	Fibroblastos y queratinocitos gingivales	[168]
	Gel y membrana de colágeno	Fibroblastos y queratinocitos gingivales	[169]
	Dermis de-epidermizada	Queratinocitos de paladar	[147]
	Membrana de colágeno-GAG	Queratinocitos orales	[170]
	Colágeno de piel bovina	Queratinocitos orales	[171]
	Dermis de-epidermizada, colágeno tipo I, colágeno-elastina y colágeno-GAG	Queratinocitos orales	[172]
	Mucosa de lengua bovina de -epitelizada	Queratinocitos epiteliales normales	[173]
Para uso clínico (en estado de evaluación clínica)	Dermis de-epidermizada	Fibroblastos y queratinocitos orales	[74, 146, 174]
	Membrana amniótica Humana	Células de mucosa oral	[175]
	Dermis de-epidermizada	Queratinocitos orales y fibroblastos	[176]
	Dermis de-epidermizada	Células de mucosa oral	[153]

Los equivalentes de tejido epitelial Epioral™/Epigingival™ (MatTek Corporation, Ashland, MA, USA), HOE / HGE Oral Epithelium (SkinEthic Laboratories, Lyon, France), se utilizan en la evaluación de la toxicidad e irritación inducida por productos de uso común en la cavidad oral [157, 158]; así como, en análisis de proliferación de epitelio de mucosa oral en presencia de compuestos químicos [159], análisis de mecanismos anti-inflamatorios de productos de cuidado de la cavidad oral [160], análisis de mecanismos de invasión de microorganismos asociados con infecciones en mucosa oral [67, 161] y estudios de permeabilidad y metabolismo de la mucosa oral [162]. La Tabla 6.2, agrupa sustitutos orales que se encuentran en desarrollo y los divide de acuerdo a su aplicación, tipo de soporte y células empleadas en su elaboración.

6.6. Conclusiones

Cuando son extensas, las pérdidas de continuidad de piel y mucosa oral dejan cicatrices con contractura que afectan la funcionalidad del tejido

reparado e impactan física y emocionalmente al paciente que las sufre, a su núcleo familiar y a los sistemas de salud. Debido a las limitaciones de tejido autólogo disponible para injerto, los tratamientos convencionales se demoran, lo cual repercute en la calidad de la cicatrización y por ende, en la calidad de vida de las personas afectadas. El campo de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa, ha desarrollado una amplia gama de productos que una vez aplicados promueven el cierre sin contractura y la regeneración de un tejido morfológica y funcionalmente más parecido al original. Su poder regenerador está basado en la capacidad de señalar a las células del lecho de la herida en que se aplican, para que sinteticen el tejido perdido. No todos los productos de este tipo actúan igual y es probable que por su bioactividad, los resultados de su aplicación varíen de paciente a paciente y de lesión a lesión.

Es importante tener en cuenta que aunque la mayoría de ellos han sido aprobados por agencias regulatorias como dispositivos médicos, los productos que contienen células son tejidos artificiales vivos y por tanto tienen una bioactividad que depende de las señales que las células que los constituyen reciben del medio ambiente en que se encuentran (Químicas, físicas, mecánicas, etc.). En la aplicación de sustitutos vivos también se debe considerar que al igual que en los injertos naturales, los mejores son aquellos elaborados con células propias porque no generan rechazo. A pesar de que *in vitro* todavía no se ha elaborado piel y mucosa oral iguales a los tejidos naturales, muchos reemplazos desarrollados por diferentes investigadores han servido para reconstruir y mejorar los resultados de la cicatrización de los sitios tratados.

En Latinoamérica, lo cierto es que estos productos apenas empiezan a ser conocidos por los médicos, odontólogos y veterinarios que los deben prescribir y aplicar. Este desconocimiento, la imposibilidad de generalizar el uso de cada uno de ellos para todos los casos de pérdidas de continuidad de piel y mucosa oral, los costos y el hecho de que los mejores sustitutos son los autólogos, son los inconvenientes más grandes que han encontrado para su popularización como procedimientos de rutina en centros de tratamiento de heridas agudas y crónicas de los tejidos blandos que comprometen la estabilidad de los pacientes. En la medida

en que la tecnología y el conocimiento de la génesis de los tejidos se perfeccionen, imitaremos mejor los procesos regenerativos. Tal vez, eso redunde en una masificación de las terapias basadas en productos de ingeniería de tejidos y medicina regenerativa.

6.7. Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Doctor Julio César Ríos Camacho, por las imágenes presentadas en la Figura 6.2. A la red CYTED “RIMADEL” por crear el espacio de colaboración que hizo posible la existencia de este capítulo. A Colciencias-SENA y a la División de Investigación de la Sede Bogotá de la Universidad Nacional de Colombia (DIB) por financiar la investigación que hemos adelantado y a los estudiantes de Doctorado en Ciencias Farmacéuticas Edward Suesca (Proyectos Colciencias 1101-521-28661 y 1101-452-21387) y Sergio Casadiegos (Proyectos DIB 9339 y 14704).

6.8. Bibliografía

- [1] J.G. Rheinwald, H. Green, *Cell*. 1975, 6, 331-43.
- [2] M.J. O'Connor NE, Banks-Schlegel S, Kehinde O, Green H, *Lancet*. 1981, 1, 75-8.
- [3] G.G. Gallico, N.E. O'Connor, C.C. Compton, O. Kehinde, H. Green, *N Engl J Med*. 1984, 311, 448-51.
- [4] J.F. Burke, I.V. Yannas, W.C. Quinby, Jr., C.C. Bondoc, W.K. Jung, *Ann Surg*. 1981, 194, 413-28.
- [5] Website: Integralife, <http://www.integralife.com>, (accessed June 13, 2014).
- [6] E. Bell, H.P. Ehrlich, D.J. Buttle, T. Nakatsuji, *Science*. 1981, 211, 1052-4.
- [7] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfTopic/pma/pma.cfm?num=p950032s016>, (accessed May 4, 2014).
- [8] J.P. Vacanti, M.A. Morse, W.M. Saltzman, A.J. Domb, A. Perez-Atayde, R. Langer, *J Pediatr Surg*. 1988, 23, 3-9.
- [9] Website: National Science Foundation, <http://www.nsf.gov/pubs/2004/nsf0450/start.html>, (accessed June 20, 2014).
- [10] F.G. Heineken, Skalak, R. , *J. Biomech. Eng*. 1991, 113.
- [11] R. Langer, J.P. Vacanti, *Science*. 1993, 260, 920-6.
- [12] E. Bell, (Eds.), “Tissue Engineering, an Overview”, Birkhäuser Boston, 1993.

- [13] C.A. Vacanti, *Tissue Eng.* 2006, 12, 1137-42.
- [14] I.V. Yannas, *Ann N Y Acad Sci.* 1997, 831, 280-93.
- [15] A. Kumar, J.W. Godwin, P.B. Gates, A.A. Garza-Garcia, J.P. Brockes, *Science.* 2007, 318, 772-7.
- [16] E.V. Yang, D.M. Gardiner, M.R. Carlson, C.A. Nugas, S.V. Bryant, *Dev Dyn.* 1999, 216, 2-9.
- [17] I.S. Park, W.S. Kim, *Mol Cells.* 1999, 9, 119-26.
- [18] K.J. Riehle, Y.Y. Dan, J.S. Campbell, N. Fausto, *J Gastroenterol Hepatol.* 2011, 26 Suppl 1, 203-12.
- [19] B.M. Carlson, *Anat Rec B New Anat.* 2005, 287, 4-13.
- [20] G.C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, M.T. Longaker, *Nature.* 2008, 453, 314-21.
- [21] C. McCusker, D.M. Gardiner, *Gerontology.* 2011, 57, 565-71.
- [22] S. Roy, S. Gatien, *Exp Gerontol.* 2008, 43, 968-73.
- [23] A.D. Widgerow, *Aesthetic Plast Surg.* 2011, 35, 628-35.
- [24] A.J. Singer, R.A. Clark, *N Engl J Med.* 1999, 341, 738-46.
- [25] M. Harty, A.W. Neff, M.W. King, A.L. Mescher, *Dev Dyn.* 2003, 226, 268-79.
- [26] P. Martin, D. D'Souza, J. Martin, R. Grose, L. Cooper, R. Maki, S.R. McKercher, *Curr Biol.* 2003, 13, 1122-8.
- [27] C.C. Lai, C.Y. Su, *Laryngoscope.* 2007, 117, 1368-72.
- [28] C.R. Leone, Jr., *Arch Ophthalmol.* 1995, 113, 113-5.
- [29] C.T. Yarrington, Jr., *Laryngoscope.* 1980, 90, 202-6.
- [30] M.R. Markiewicz, M.A. Lukose, J.E. Margarone, 3rd, G. Barbagli, K.S. Miller, S.K. Chuang, *J Urol.* 2007, 178, 387-94.
- [31] M.R. Markiewicz, J.L. DeSantis, J.E. Margarone, 3rd, M.A. Pogrel, S.K. Chuang, *J Oral Maxillofac Surg.* 2008, 66, 739-44.
- [32] A. Chaine, P. Pitak-Arnop, M. Hivelin, K. Dhanuthai, J.C. Bertrand, C. Bertolus, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009, 108, 488-95.
- [33] F.J. Conroy, P.J. Mahaffey, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009, 62, e421-3.
- [34] K.J. Wood, *Immunol Lett.* 1991, 29, 133-7.
- [35] S.F. Badylak, T.W. Gilbert, *Semin Immunol.* 2008, 20, 109-16.
- [36] D.J. Loeffelbein, C. Baumann, M. Stoeckelhuber, R. Hasler, T. Mucke, L. Steinstrasser, E. Drecoll, K.D. Wolff, M.R. Kesting, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012, 100, 1245-56.
- [37] M.R. Kesting, K.D. Wolff, B. Hohlweg-Majert, L. Steinstraesser, *J Burn Care Res.* 2008, 29, 907-16.
- [38] H.S. Dua, J.A. Gomes, A.J. King, V.S. Maharajan, *Surv Ophthalmol.* 2004, 49, 51-77.
- [39] J.D. Trelford, M. Trelford-Sauder, *Am J Obstet Gynecol.* 1979, 134, 833-45.
- [40] I. Sarwar, R. Sultana, R.U. Nisa, I. Qayyum, *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2010, 22, 7-10.
- [41] A. Koziak, A. Marcheluk, T. Dmowski, R. Szczesniewski, P. Kania, A. Dorobek, *Ann Transplant.* 2004, 9, 21-4.
- [42] I. Mermet, N. Pottier, J.M. Sainthillier, C. Malugani, S. Cairey-Remonnay, S. Maddens, D. Riethmuller, P. Tiberghien, P. Humbert, F. Aubin, *Wound Repair Regen.* 2007, 15, 459-64.

- [43] E.O. Johnson, P.N. Soucacos, *Injury*. 2008, 39 Suppl 3, S30-6.
- [44] S. Diaz-Prado, E. Muinos-Lopez, T. Hermida-Gomez, C. Cicione, M.E. Rendal-Vazquez, I. Fuentes-Boquete, F.J. de Toro, F.J. Blanco, *Differentiation*. 2011, 81, 162-71.
- [45] M. Tanemura, D. Yin, A.S. Chong, U. Galili, *J Clin Invest*. 2000, 105, 301-10.
- [46] O. Bloch, P. Golde, P.M. Dohmen, S. Posner, W. Konertz, W. Erdbrugger, *Tissue Eng Part A*. 2011, 17, 2399-405.
- [47] S. Saraf, R. Parihar, *The Internet Journal of Plastic Surgery*. 2006 4 2.
- [48] D. Druecke, E.N. Lamme, S. Hermann, J. Pieper, P.S. May, H.U. Steinau, L. Steinstraesser, *Wound Repair Regen*. 2004, 12, 518-27.
- [49] J. Velema, D. Kaplan, *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2006, 102, 187-238.
- [50] B.D. Ulery, L.S. Nair, C.T. Laurencin, *J Polym Sci B Polym Phys*. 2011, 49, 832-864.
- [51] D. Williams, *Med Device Technol*. 2003, 14, 10-3.
- [52] M.R. Fontanilla, L.G. Espinosa, *Tissue Eng Part A*. 2012, 18, 1857-66.
- [53] K.S. Vasanthan, A. Subramanian, U.M. Krishnan, S. Sethuraman, *Biotechnol Adv*. 2012, 30, 742-52.
- [54] I.V. Yannas, E. Lee, D.P. Orgill, E.M. Skrabut, G.F. Murphy, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989, 86, 933-7.
- [55] F. Chen, J.J. Yoo, A. Atala, *World J Urol*. 2000, 18, 67-70.
- [56] J.J. Yoo, J. Meng, F. Oberpenning, A. Atala, *Urology*. 1998, 51, 221-5.
- [57] R.E. De Filippo, J.J. Yoo, A. Atala, *J Urol*. 2002, 168, 1789-92; discussion 1792-3.
- [58] F. Groeber, M. Holeiter, M. Hampel, S. Hinderer, K. Schenke-Layland, *Adv Drug Deliv Rev*. 2011, 63, 352-66.
- [59] F. Rosso, G. Marino, A. Giordano, M. Barbarisi, D. Parmeggiani, A. Barbarisi, *J Cell Physiol*. 2005, 203, 465-70.
- [60] L. Espinosa, A. Sosnik, M.R. Fontanilla, *Tissue Eng Part A*. 2010, 16, 1667-79.
- [61] S.F. Badylak, D. Taylor, K. Uygun, *Annu Rev Biomed Eng*. 2011, 13, 27-53.
- [62] A. Atala, S.B. Bauer, S. Soker, J.J. Yoo, A.B. Retik, *Lancet*. 2006, 367, 1241-6.
- [63] G. Lauer, *J Craniomaxillofac Surg*. 1994, 22, 18-22.
- [64] C.Y. Tsai, M. Ueda, K. Hata, K. Horie, Y. Hibino, Y. Sugimura, K. Toriyama, S. Torii, *J Craniomaxillofac Surg*. 1997, 25, 4-8.
- [65] C.D. Little, W.T. Chen, *J Cell Sci*. 1982, 55, 35-50.
- [66] Y. Mostefaoui, I. Claveau, M. Rouabhia, *Cytokine*. 2004, 25, 162-71.
- [67] E. Andrian, Y. Mostefaoui, M. Rouabhia, D. Grenier, *J Cell Physiol*. 2007, 211, 56-62.
- [68] S. Kuroki, S. Yokoo, H. Terashi, M. Hasegawa, T. Komori, *Kobe J Med Sci*. 2009, 55, E5-E15.
- [69] T. Shimizu, M. Yamato, A. Kikuchi, T. Okano, *Biomaterials*. 2003, 24, 2309-16.
- [70] H. Kobayashi, T. Shimizu, M. Yamato, K. Tono, H. Masuda, T. Asahara, H. Kasanuki, T. Okano, *J Artif Organs*. 2008, 11, 141-7.
- [71] Y. Sawa, S. Miyagawa, T. Sakaguchi, T. Fujita, A. Matsuyama, A. Saito, T. Shimizu, T. Okano, *Surg Today*. 2012, 42, 181-4.
- [72] T. Kobayashi, K. Kan, K. Nishida, M. Yamato, T. Okano, *Biomaterials*. 2013, 34, 9010-7.
- [73] R.S. Tuan, G. Boland, R. Tuli, *Arthritis Res Ther*. 2003, 5, 32-45.

- [74] K. Izumi, S.E. Feinberg, A. Iida, M. Yoshizawa, *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2003, 32, 188-97.
- [75] L.A. Fortier, *Vet Surg.* 2005, 34, 415-23.
- [76] Y.C. Hsu, E. Fuchs, *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012, 13, 103-14.
- [77] F.M. Watt, R.R. Driskell, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2010, 365, 155-63.
- [78] C.S. Potten, M. Loeffler, *Development.* 1990, 110, 1001-20.
- [79] B. Walia, N. Satija, R.P. Tripathi, G.U. Gangenahalli, *Stem Cell Rev.* 2012, 8, 100-15.
- [80] G. Amabile, A. Meissner, *Trends Mol Med.* 2009, 15, 59-68.
- [81] K. Takahashi, S. Yamanaka, *Cell.* 2006, 126, 663-76.
- [82] J. Alper, *Nat Biotechnol.* 2009, 27, 213-4.
- [83] D. Brindley, C. Mason, *Regen Med.* 2012, 7, 17-8.
- [84] Website: <http://clinicaltrials.gov>, (accessed June 20, 2014).
- [85] V.K. Prasad, K.G. Lucas, G.I. Kleiner, J.A. Talano, D. Jacobsohn, G. Broadwater, R. Monroy, J. Kurtzberg, *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011, 17, 534-41.
- [86] Website: Osiris, <http://www.osiris.com>, (accessed June 20, 2014).
- [87] Website: <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/>, (accessed June 20, 2014).
- [88] P. Dowling, M. Clynes, *Proteomics.* 2011, 11, 794-804.
- [89] Y.M. Elcin, V. Dixit, G. Gitnick, *Artif Organs.* 2001, 25, 558-65.
- [90] A.E. Elcin, Y.M. Elcin, *Tissue Eng.* 2006, 12, 959-68.
- [91] J.E. Tengood, R. Ridenour, R. Brodsky, A.J. Russell, S.R. Little, *Tissue Eng Part A.* 2011, 17, 1181-9.
- [92] D. Nieto, MSc Thesis, National University of Colombia, 2014.
- [93] C.S. Hankin, J. Knispel, M. Lopes, A. Bronstone, E. Maus, *J Manag Care Pharm.* 2012, 18, 375-84.
- [94] M. Schafer-Korting, U. Bock, W. Diembeck, H.J. Dusing, A. Gamer, E. Haltner-Ukomadu, C. Hoffmann, M. Kaca, H. Kamp, S. Kersen, M. Kietzmann, H.C. Korting, H.U. Krachter, C.M. Lehr, M. Liebsch, A. Mehling, C. Muller-Goymann, F. Netzlaff, F. Niedorf, M.K. Rubbelke, U. Schafer, E. Schmidt, S. Schreiber, H. Spielmann, A. Vuia, M. Weimer, *Altern Lab Anim.* 2008, 36, 161-87.
- [95] F. Netzlaff, C.M. Lehr, P.W. Wertz, U.F. Schaefer, *Eur J Pharm Biopharm.* 2005, 60, 167-78.
- [96] H. Wagner, K.H. Kostka, C.M. Lehr, U.F. Schaefer, *J Control Release.* 2001, 75, 283-95.
- [97] Website: Epicel, <http://www.epicel.com/hcp/about/epicel.aspx>, (accessed May 4, 2014).
- [98] C.J. Zweifel, C. Contaldo, C. Kohler, A. Jandali, W. Kunzi, P. Giovanoli, *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008, 61, e1-4.
- [99] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf/p900033s008a.pdf, (accessed May 4, 2014).
- [100] E. Bar-Meir, D. Mendes, E. Winkler, *Isr Med Assoc J.* 2006, 8, 188-91.
- [101] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, <http://www.accessdata.fda.gov/cdrh/cfdocs/cfpma/pma.cfm?id=19093>, (accessed May 4, 2014).
- [102] R.J. Kumar, R.M. Kimble, R. Boots, S.P. Pegg, *ANZ J Surg.* 2004, 74, 622-6.
- [103] M. Carlson, K. Faria, Y. Shamis, J. Leman, V. Ronfard, J. Garlick, *Tissue Eng Part A.* 2011, 17, 487-93.

- [104] I. Gonzalez Alana, J.V. Torrero Lopez, P. Martin Playa, F.J. Gabilondo Zubizarreta, *Ann Burns Fire Disasters*. 2013, 26, 90-93.
- [105] C. Pham, J. Greenwood, H. Cleland, P. Woodruff, G. Maddern, *Burns*. 2007, 33, 946-57.
- [106] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf/H990002a.pdf, (accessed May 4, 2014).
- [107] C. De Bie, *Regen Med*. 2007, 2, 95-7.
- [108] H. Lev-Tov, C.S. Li, S. Dahle, R.R. Isseroff, *Trials*. 2013, 14, 8.
- [109] G.A. Gholami, A. Saberi, M. Kadkhodazadeh, R. Amid, D. Karami, *Dent Res J (Isfahan)*. 2013, 10, 506-13.
- [110] S.L. Spear, S.R. Sher, A. Al-Attar, T. Pittman, *Plast Reconstr Surg*. 2013.
- [111] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf5/K050355.pdf, (accessed May 4, 2014).
- [112] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf6/K061711.pdf, (accessed May, 2014).
- [113] Website: FDA, U.S. Food and Drug Administration, USA, http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf/P010016a.pdf, (accessed May 4, 2014).
- [114] N. Ortega-Zilic, T. Hunziker, S. Lauchli, D.O. Mayer, C. Huber, K. Baumann Conzett, K. Sippel, L. Borradori, L.E. French, J. Hafner, *Dermatology*. 2010, 221, 365-72.
- [115] Website: Symatase, <http://www.symatase.com/nevelia/>, (accessed June 20, 2014).
- [116] C. Philandrianos, L. Andrac-Meyer, S. Mordon, J.M. Feuerstein, F. Sabatier, J. Veran, G. Magalon, D. Casanova, *Burns*. 2012, 38, 820-9.
- [117] Website: Medskin, <http://www.medskin-suwelack.com/en/matriderm.html>, (accessed June 20, 2014).
- [118] A.M. Szpaderska, J.D. Zuckerman, L.A. DiPietro, *J Dent Res*. 2003, 82, 621-6.
- [119] L. Hakkinen, V.J. Uitto, H. Larjava, *Periodontol 2000*. 2000, 24, 127-52.
- [120] K. Izumi, J. Song, S.E. Feinberg, *Cells Tissues Organs*. 2004, 176, 134-52.
- [121] P.A. Clugston, C.F. Snelling, I.B. Macdonald, H.L. Maledy, J.C. Boyle, E. Germann, A.D. Courtemanche, P. Wirtz, D.J. Fitzpatrick, D.A. Kester, et al., *J Burn Care Rehabil*. 1991, 12, 533-9.
- [122] M.C. Little, R.E. Watson, M.N. Pemberton, C.E. Griffiths, M.H. Thornhill, *Br J Dermatol*. 2001, 144, 1024-32.
- [123] Y. Mostefaoui, C. Bart, M. Frenette, M. Rouabhia, *Cell Microbiol*. 2004, 6, 1085-96.
- [124] M. Fujioka, T. Fujii, *Cleft Palate Craniofac J*. 1997, 34, 297-308.
- [125] R. Ophof, J.C. Maltha, J.W. Von den Hoff, A.M. Kuijpers-Jagtman, *Wound Repair Regen*. 2004, 12, 528-38.
- [126] K. Moharamzadeh, I.M. Brook, R. Van Noort, A.M. Scutt, M.H. Thornhill, *J Dent Res*. 2007, 86, 115-24.
- [127] R.G. Jansen, A.M. Kuijpers-Jagtman, T.H. van Kuppevelt, J.W. Von den Hoff, *J Craniofac Surg*. 2008, 19, 599-608.
- [128] K. Moharamzadeh, I.M. Brook, R. Van Noort, A.M. Scutt, K.G. Smith, M.H. Thornhill, *J Mater Sci Mater Med*. 2008, 19, 1793-801.
- [129] S. Ekanki, M.A.Sc., UNIVERSITY OF TORONTO, 2008.
- [130] R. Ophof, L.M. van der Loo, J.C. Maltha, A.M. Kuijpers-Jagtman, J.W. Von den Hoff, *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2010, 138, 58-66.

- [131] F. Simain-Sato, J. Lahmouzi, G.K. Kalykakis, E. Heinen, M.P. Defresne, M.C. De Pauw, T. Grisar, J.J. Legros, R. Legrand, *J Periodontol.* 1999, 70, 1234-9.
- [132] M.K. McGuire, *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2003, 18, 327-8.
- [133] A.Z. Rodrigues, P. Tambasco de Oliviera, A.B. Novaes Jr., L.P. Maia, S.L. Scombatti de Souza, D.B. Palioto, *Brazilian Dental Journal* (2010) 21(3): 179-185. 2010, 21, 179-185.
- [134] E.N. Lamme, R.T. van Leeuwen, A. Jonker, J. van Marle, E. Middelkoop, *J Invest Dermatol.* 1998, 111, 989-95.
- [135] E.N. Lamme, R.T. Van Leeuwen, K. Brandsma, J. Van Marle, E. Middelkoop, *J Pathol.* 2000, 190, 595-603.
- [136] T. Wong, J.A. McGrath, H. Navsaria, *Br J Dermatol.* 2007, 156, 1149-55.
- [137] C.M. Chen, C.F. Yang, Y.S. Shen, I.Y. Huang, C.F. Wu, *J Surg Oncol.* 2008, 97, 291-3.
- [138] M.K. McGuire, D.L. Cochran, *J Periodontol.* 2003, 74, 1126-35.
- [139] T.G. Wilson, Jr., M.K. McGuire, M.E. Nunn, *J Periodontol.* 2005, 76, 881-9.
- [140] C. Luitaud, C. Laflamme, A. Semlali, S. Saidi, G. Grenier, A. Zakrzewski, M. Rouabhia, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2007, 83, 554-61.
- [141] S. Sauerbier, R. Gutwald, M. Wiedmann-Al-Ahmad, G. Lauer, R. Schmelzeisen, *Clin Oral Implants Res.* 2006, 17, 625-32.
- [142] A. El Ghalbzouri, E. Lamme, M. Ponec, *Cell Tissue Res.* 2002, 310, 189-99.
- [143] H.J. Wang, J. Pieper, R. Schotel, C.A. van Blitterswijk, E.N. Lamme, *Tissue Eng.* 2004, 10, 1054-64.
- [144] J.H. Chung, K.H. Cho, D.Y. Lee, O.S. Kwon, M.W. Sung, K.H. Kim, H.C. Eun, *Arch Dermatol Res.* 1997, 289, 677-85.
- [145] K. Izumi, G. Takacs, H. Terashi, S.E. Feinberg, *J Oral Maxillofac Surg.* 1999, 57, 571-7; discussion 577-8.
- [146] K. Izumi, H. Terashi, C.L. Marcelo, S.E. Feinberg, *J Dent Res.* 2000, 79, 798-805.
- [147] K.H. Cho, H.T. Ahn, K.C. Park, J.H. Chung, S.W. Kim, M.W. Sung, K.H. Kim, P.H. Chung, H.C. Eun, J.I. Youn, *J Dermatol Sci.* 2000, 22, 117-24.
- [148] T. Hotta, S. Yokoo, H. Terashi, T. Komori, *Kobe J Med Sci.* 2007, 53, 1-14.
- [149] J. Liu, E.N. Lamme, R.P. Steegers-Theunissen, I.P. Krapels, Z. Bian, H. Marres, P.H. Spauwen, A.M. Kuijpers-Jagtman, J.W. Von den Hoff, *J Dent Res.* 2008, 87, 788-92.
- [150] B. Kinikoglu, C. Auxenfans, P. Pierrillas, V. Justin, P. Breton, C. Burillon, V. Hasirci, O. Damour, *Biomaterials.* 2009, 30, 6418-25.
- [151] J. Liu, Z. Bian, A.M. Kuijpers-Jagtman, J.W. Von den Hoff, *Orthod Craniofac Res.* 2010, 13, 11-20.
- [152] M. Yoshizawa, S.E. Feinberg, C.L. Marcelo, V.M. Elner, *J Oral Maxillofac Surg.* 2004, 62, 980-8.
- [153] T. Iida, Y. Takami, R. Yamaguchi, S. Shimazaki, K. Harii, *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2005, 39, 138-46.
- [154] I.A. Mungadi, V.I. Ugboko, *Ann Afr Med.* 2009, 8, 203-9.
- [155] B. Hüsing, B. Bürhrlen, S. Gaisser, Franhofer. Institute Systems and Innovation Research. 2013.
- [156] Website: Organogenesis Inc, <http://www.organogenesis.com/products/oral-regeneration.html>, (accessed June 20, 2014).
- [157] M. Klausner, S. Ayehunie, B.A. Breyfogle, P.W. Wertz, L. Bacca, J. Kubilus, *Toxicol In Vitro.* 2007, 21, 938-49.

- [158] B. Vande Vannet, J.L. Hanssens, H. Wehrbein, *Eur J Orthod.* 2007, 29, 60-6.
- [159] Website: Mattek, <http://www.mattek.com/pages/abstracts/450>, (accessed May 15, 2014).
- [160] G. Schmalz, H. Schweikl, K.A. Hiller, *Eur J Oral Sci.* 2000, 108, 442-8.
- [161] D.W. Williams, K.L. Bartie, A.J. Potts, M.J. Wilson, M.J. Fardy, M.A. Lewis, *Gerodontology.* 2001, 18, 73-8.
- [162] L. Selvaratnam, A.T. Cruchley, H. Navsaria, P.W. Wertz, E.P. Hagi-Pavli, I.M. Leigh, C.A. Squier, D.M. Williams, *Oral Dis.* 2001, 7, 252-8.
- [163] G. Schmalz, D. Arenholt-Bindslev, K.A. Hiller, H. Schweikl, *Eur J Oral Sci.* 1997, 105, 86-91.
- [164] Y. Mostefaoui, I. Claveau, G. Ross, M. Rouabhia, *J Clin Periodontol.* 2002, 29, 1035-41.
- [165] E. Andrian, D. Grenier, M. Rouabhia, *Infect Immun.* 2004, 72, 4689-98.
- [166] I. Claveau, Y. Mostefaoui, M. Rouabhia, *Matrix Biol.* 2004, 23, 477-86.
- [167] F. Tardif, J.P. Goulet, A. Zakrzewski, P. Chauvin, M. Rouabhia, *Med Sci Monit.* 2004, 10, BR239-49.
- [168] I. Masuda, *Kokubyo Gakkai Zasshi.* 1996, 63, 334-53.
- [169] T. Moriyama, I. Asahina, M. Ishii, M. Oda, Y. Ishii, S. Enomoto, *Tissue Eng.* 2001, 7, 415-27.
- [170] F.A. Navarro, S. Mizuno, J.C. Huertas, J. Glowacki, D.P. Orgill, *Wound Repair Regen.* 2001, 9, 507-12.
- [171] M. Rouabhia, N. Deslauriers, *Biochem Cell Biol.* 2002, 80, 189-95.
- [172] R. Ophof, R.E. van Rheden, H.J. Von den, J. Schalkwijk, A.M. Kuijpers-Jagtman, *Biomaterials.* 2002, 23, 3741-8.
- [173] H.C. Hildebrand, L. Hakkinen, C.B. Wiebe, H.S. Larjava, *Histol Histopathol.* 2002, 17, 151-63.
- [174] K. Izumi, S.E. Feinberg, H. Terashi, C.L. Marcelo, *Tissue Eng.* 2003, 9, 163-74.
- [175] T. Nakamura, K. Endo, L.J. Cooper, N.J. Fullwood, N. Tanifuji, M. Tsuzuki, N. Koizumi, T. Inatomi, Y. Sano, S. Kinoshita, *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003, 44, 106-16.
- [176] S. Bhargava, C.R. Chapple, A.J. Bullock, C. Layton, S. MacNeil, *BJU Int.* 2004, 93, 807-11.

PARTE II
TECNOLOGIAS APLICADAS À CONCEPÇÃO E
PRODUÇÃO DE SISTEMAS TERAPÊUTICOS/
TECNOLOGÍAS APLICADAS AL DISEÑO Y
PRODUCCIÓN DE SISTEMAS TERAPÉUTICOS /
APPLIED TECHNOLOGIES FOR THE DESIGN AND
PRODUCTION OF THERAPEUTIC SYSTEMS