



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ANDAMIOS EN INGENIERÍA TISULAR PARA TEJIDOS  
PERIODONTALES.**

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N O   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

CARLOS GUILLERMO BENÍTEZ SILVA

TUTOR: Esp. RAÚL LEÓN AGUILAR

ASESORA: Esp. IRLANDA BARRÓN GARCÉS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN . . . . .	6
2. OBJETIVO . . . . .	8
3. ANTECEDENTES . . . . .	9
4. MATRIZ EXTRACELULAR . . . . .	11
5. GENERALIDADES DE LA INGENIERÍA TISULAR . . . . .	14
5.1. CÉLULAS . . . . .	16
5.2. MOLÉCULAS SEÑALIZADORAS . . . . .	17
5.3. ANDAMIOS . . . . .	20
6. ANDAMIOS EN INGENIERÍA TISULAR PARA TEJIDOS PERIODONTALES . . . . .	23
6.1. FUNCIONES ANÁLOGAS DE LOS ANDAMIOS Y LA MATRIZ EXTRACELULAR. . . . .	24
6.2. ANDAMIOS POROSOS PRE-FABRICADOS PARA EL CULTIVO CELULAR . . . . .	26
6.3. PROCESOS DE OBTENCIÓN DE ANDAMIOS . . . . .	28
6.4. MECANISMOS POR LOS CUALES LOS ANDAMIOS PROMUEVEN LA REMODELACIÓN CONSTRUCTIVA DEL TEJIDO . . . . .	31
6.5. ANDAMIOS PARA TEJIDOS BLANDOS . . . . .	31
6.5.1. Andamios derivados naturalmente . . . . .	32
6.5.1.1 Dermis acelular humana . . . . .	32

6.5.1.2. Dermis Deseptelizada (DED)	35
6.5.2. Membrana amniótica	36
6.5.3. Sustitutos de piel poblados con fibroblastos	37
6.5.4 Andamios basados en colágena	38
6.5.4.1. Andamios de colágena pura	39
6.5.4.2. Andamios de colágena compuesta	39
6.5.5. Andamios basados en gelatina	41
6.5.6. Andamios basados en fibrina	41
6.5.7. Andamios sintéticos.	42
6.5.8. Andamios híbridos	43
6.6. ANDAMIOS PARA TEJIDOS DUROS	43
6.6.1. Autoinjertos	43
6.6.2. Aloinjertos	45
6.6.2.1. Hueso fresco congelado	46
6.6.2.2. Aloinjertos óseos liofilizados y liofilizados desmineralizados	46
6.6.3. Xenoinjertos	47
6.6.3.1. Hueso bovino inorgánico.	47
6.6.3.2. Hidroxiapatita	47
6.6.4. Sustitutos óseos aloplásticos	48
6.6.4.1. Fosfatos de calcio.	48
6.6.4.2. Sulfato de calcio	50
6.6.4.3. Hidroxiapatita	50
6.6.5. Polímeros de vidrios bioactivos	52

6.6.6. Polímeros y colágenas	. . . . .	52
6.5.6.1 Ácido polilactico y ácido poliglicolico	. . . . .	52
6.5.6.2. Colágena	. . . . .	53
6.6.7. Quitosano	. . . . .	54
7. CONCLUSIONES	. . . . .	56
8. FUENTES DE INFORMACIÓN	. . . . .	58

## **Agradecimientos.**

**A mis padres que siempre han estado conmigo y me han brindado todo el apoyo y las bases que me han formado. Y que todo el tiempo me han demostrado su cariño.**

**A mi hermana Alejandra que ha sido parte muy importante de mi vida y que gracias a su ejemplo me he propuesto cada vez más retos en la vida.**

**A Gabriela la cual siempre me ha mostrado su apoyo incondicional y ha estado conmigo en momentos importantes de mi vida.**

**A Alondra y Efosina que siempre están presentes y por los grandes momentos que me han dado.**

**A todos los amigos que he hecho a través del tiempo y me han brindado gratos momentos.**

**A la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme como persona.**

**A todos los profesores que me han apoyado en el transcurso de mi carrera y en especial a la Mtra. Amalia Cruz Chávez.**

**A mi tutor, el Esp. Raúl León Aguilar que me ha dado la oportunidad y el apoyo de aprender y desarrollarme en el área que me gusta.**

**A mi asesora, la Esp. Irlanda Barrón Garcés por haberme tenido siempre paciencia, haberme apoyado incondicionalmente y compartirme su conocimiento.**

**Gracias**



---

## 1. INTRODUCCIÓN

En este trabajo de investigación se abordarán los andamios, los cuales son uno de los elementos clave que dan lugar a la ingeniería tisular para llevar a cabo la regeneración de tejidos que han sufrido alguna herida o que tienen un defecto por diversas causas.

El objetivo es dar a conocer los diferentes tipos de andamios con los que se ha trabajado en el área de periodoncia; diferenciar para qué tipo de tejidos están diseñados y las funciones que van a realizar en donde sean implantados.

Generalmente, en la consulta odontológica, los cirujanos dentistas se encuentran defectos o heridas que no tienen un buen pronóstico debido a las características físicas y a la extensión de la lesión, lo cual de manera frecuente, lleva a una cicatrización fibrosa complicando los tratamientos. Con el propósito de evitar lo anterior, desde los últimos 30 años se han realizado investigaciones científicas y desarrollado técnicas para ayudar al organismo a llevar a cabo una correcta regeneración de los tejidos. Una de ellas es la ingeniería tisular, la cual se basa en una triada compuesta de: células, moléculas señalizadoras y andamios.

Los andamios son materiales que imitan a la matriz extracelular del tejido blanco en los que se desarrolla el crecimiento celular y diversos procesos que llevan a la regeneración del tejido.

En la investigación sobre andamios se han utilizado materiales provenientes de diversos orígenes –sintéticos, animales, humanos, entre otros– con el objetivo de encontrar materiales con las características adecuadas para su aplicación en la ingeniería tisular.



Este trabajo ofrece en su inicio, los antecedentes de la ingeniería tisular; después brinda información sobre distintos elementos que motivaron a la investigación científica a trabajar en esta área; el tipo de materiales y las técnicas que han sido utilizadas en la ingeniería tisular. Además, aborda las características de la matriz extracelular de todos los tejidos. Debido a que los andamios realizan funciones análogas de la matriz extracelular, se dan a conocer las características generales de ésta, la manera cómo tienen que ser elaborados los andamios y las funciones por suplir. También, presenta las generalidades de la ingeniería tisular con el objetivo de conocer la importancia de la triada de la misma, la cual en conjunto promueve la regeneración tisular. Seguidamente, se centra en los andamios, los cuales son parte elemental de la triada de la ingeniería tisular, en las características y funciones que estos deben tener, especialmente los que son aplicados en los tejidos periodontales; presenta una división de los diferentes tipos de andamios para tanto tejidos blandos como para tejidos duros y sus diferentes aplicaciones, y finalmente, brinda una conclusión sobre la investigación.



---

## 2. OBJETIVO

El objetivo de esta tesina es dar a conocer los diferentes tipos de andamios que existen y sus aplicaciones para la ingeniería tisular en los tejidos periodontales.

La importancia de este tema es que se considera que los andamios en la ingeniería tisular son de gran relevancia en tanto son usados en procedimientos regenerativos. Además, las investigaciones acerca de nuevos materiales, y el desarrollo de tecnologías para la elaboración de andamios han permitido que su aplicación sea más efectiva en la regeneración tisular.



### 3. ANTECEDENTES

Un momento clave en el desarrollo de la ingeniería tisular fue a mediados de los años 80 del siglo XX cuando el Dr. Joseph Vacanti quien trabajaba para el Hospital para Niños en Boston, se acercó al Dr. Robert Langer del Massachusetts Institute of Technology (MIT) con la idea de diseñar andamios apropiados para la entrega celular. Esto se perfilaba como una alternativa al cultivo de células en andamios naturales con propiedades físicas y químicas que no podían ser manipuladas y cuyos resultados eran impredecibles. El Dr. Vacanti llevó a cabo extensos estudios para obtener tejidos funcionales equivalentes utilizando una red derivada de polímeros sintéticos biodegradables y biocompatibles, configurados como andamios cultivados con células viables.<sup>1</sup>

La ingeniería tisular desde esa época continuó evolucionando como un campo fascinante y multidisciplinario, y uno de sus objetivos era desarrollar sustitutos biológicos para restaurar, reposicionar o regenerar tejidos que hubiesen tenido alguna lesión o que tuvieran defectos.<sup>1</sup>

En esta disciplina las células, los andamios y los señalizadores que estimulan el crecimiento son conocidos como la triada de la ingeniería tisular, y la clave de los tejidos con ingeniería tisular.<sup>2</sup>

A partir del surgimiento de la ingeniería tisular, desde la ciencia se ha buscado entender los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la curación y la regeneración con el objetivo de optimizar los tratamientos. Sin embargo, ha sido complejo realizar exitosamente un proceso de regeneración de los tejidos perdidos por enfermedad, traumas o enfermedades congénitas; por ello, algunos cirujanos dentistas se muestran escépticos a las terapéuticas regenerativas.<sup>3</sup>



---

Las modalidades de tratamiento regenerativo dentro de la medicina han incluido históricamente el uso de andamios de biomateriales tridimensionales o matrices-para apoyar la regeneración de tejidos perdidos por enfermedad, trauma, o deformidades congénitas-; los injertos autógenos óseos -utilizados en procedimientos ortopédicos de injertos para el área cráneo-maxilofacial son considerados el estándar de oro porque estos proveen una matriz osteoconductiva junto con células y moléculas estimuladoras del crecimiento.<sup>3</sup>

## 4. MATRIZ EXTRACELULAR

Las células normales en los tejidos humanos, excepto las células de la sangre, residen y dependen del anclaje de una matriz sólida llamada matriz extracelular (MEC) (Fig. 1).<sup>2</sup>

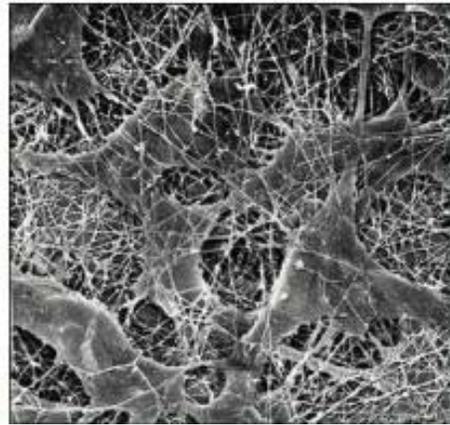


Figura 1. Micrografía de células embebidas en matriz extracelular.<sup>4</sup>

Los cuatro tejidos básicos del cuerpo humano están constituidos por células y una matriz extracelular. Sin embargo, dependiendo del tejido del cuerpo que se trate, la constitución de este puede contener cantidades variables de matriz extracelular.<sup>5</sup>

Así, el tejido epitelial posee una escasa matriz por la disposición en forma de láminas, en cambio, el tejido conectivo está constituido principalmente por matriz extracelular que es más sólida y abundante que la del epitelial. La matriz extracelular del tejido conectivo esta compuesta por moléculas secretadas por las células residentes de cada tejido u órgano, por lo que composición de la ultraestructura de la MEC está altamente relacionada con el fenotipo celular y las funciones requeridas incluyendo las fuerzas mecánicas, el medio bioquímico, los requerimientos de oxígeno, el pH, y los patrones de expresión genética del tejido u órgano del cual se deriva.<sup>5</sup>



La MEC está compuesta principalmente por glucosaminoglucanos (GAG), proteoglicanos, glicoproteínas y por una sustancia fundamental hidratada -similar a un gel-, con fibras incluidas en ella. La sustancia fundamental resiste fuerzas de compresión y las fibras resisten fuerzas de tensión. Sus componentes incluyen colágena, fibronectina, elastina, laminina, glucosaminoglucanos, y factores de crecimiento entre otros. La colágena compone cerca del 90% del peso seco de la mayoría de las matrices, siendo el colágeno tipo 1, el encontrado en la mayoría de órganos y tejidos.<sup>5</sup>

Dentro de las moléculas funcionales dentro de la MEC están los factores de crecimiento incluyendo el de crecimiento vascular endotelial (VEGF), los miembros de la familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado del estroma (SDF-1), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento beta-transformador (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), el factor de crecimiento de hepatocito (HGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), y las proteínas morfogenéticas óseas (BMP). El tipo y cantidad exactos de cada componente dentro de la MEC son dependientes y están relacionados con los requerimientos específicos de cada tejido.<sup>5</sup>

Así, la MEC influye el fenotipo, la migración, y la proliferación de células residentes; además de servir como un medio para la transferencia de señales entre las células. Por esta razón se considera que la MEC se encuentra en un estado de reciprocidad dinámica con la población de células residentes y juega un papel importante en la morfogénesis del tejido normal y el órgano.<sup>6</sup>

Existen numerosos tipos de MEC en los tejidos humanos, los cuales tienen múltiples componentes, una composición tisular específica y diversas funciones en los tejidos, las cuales son las siguientes:



- Proveer soporte estructural y un entorno físico para las células que residen en ese tejido para fijarse, crecer, migrar y responder a señales.
- Dar al tejido su estructura y propiedades mecánicas, como rigidez y elasticidad la cual está asociada a las funciones celulares.
- Proveer señales bioactivas para las células residentes para la regulación de sus actividades.
- Actuar como un reservorio de factores de crecimiento y potenciar sus bioactividades.
- Proveer un entorno físico degradable para permitir la neovascularización y la remodelación en respuesta al desarrollo, los desafíos fisiológicos y patológicos durante los procesos dinámicos como la morfogénesis, la homeostasis y la cicatrización.<sup>2</sup>



## 5. GENERALIDADES DE LA INGENIERÍA TISULAR

Los cirujanos dentistas se enfrentan frecuentemente defectos en los tejidos como resultado de alguna enfermedad o trauma. Si el defecto es pequeño, este sana sin evidencia de alguna herida previa. Sin embargo, si el defecto es mayor, ocurre una regeneración incompleta y aparece una cicatriz fibrosa. Esto significa que el tejido no ha sido restablecido a su estado original y posee propiedades físicas y mecánicas significativamente menores al tejido original.<sup>7</sup>

El objetivo de la ingeniería tisular y la medicina regenerativa es promover la formación de un tejido por medio de un cultivo de células que son sembradas en varias matrices porosas absorbibles que dirigen hacia la curación e, idealmente, hacia una regeneración franca de la estructura tisular y función de una manera más predecible, más rápida, y menos invasiva de lo que permitían las técnicas previas.<sup>37</sup>

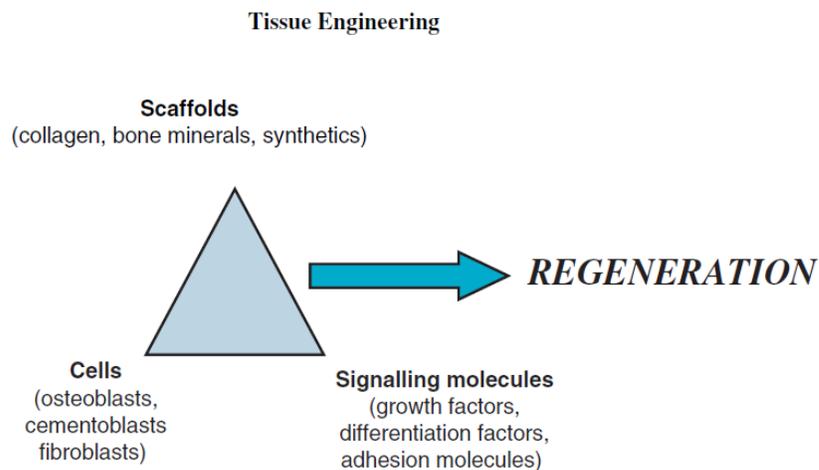
Estudios recientes han mostrado que varios tipos de células, como las óseas, pueden proliferar y mantener su fenotipo cuando son cultivadas en sustratos de matrices, geles bidimensionales y tridimensionales *in vitro*. Esto ha formado la base de la ingeniería tisular, la cual ahora incluye la implantación de matrices porosas, solas o sembradas con células, para facilitar la regeneración tisular *in vivo*.<sup>7</sup>

Los procesos de reparación tisular pueden proceder tanto en reparación o regeneración. El resultado final del proceso de reparación es una cicatriz fibrosa, mientras el producto final de la regeneración es un tejido con características indistinguibles que se puede comparar con el material original. El problema con la cicatriz es que no restablece las propiedades normales y la función fisiológica del tejido u órgano que sufrió la herida.<sup>7</sup>

Los tejidos están compuestos por células, matriz extracelular insoluble, y moléculas solubles que sirven como reguladores de las funciones celulares. Un requisito para la regeneración es el potencial de las células del parénquima para dividirse. Las células están clasificadas como lábiles, estables, o permanentes, este criterio esta basado en su habilidad para dividirse.<sup>7</sup>

En la curación de las heridas el proceso natural de la curación usualmente resulta en una reparación cicatrizal. Con la utilización de la ingeniería tisular, el proceso de curación de la herida es manipulado y así la regeneración tisular ocurre. Esta manipulación usualmente implica uno o más de los siguientes elementos:

- Células
- Moléculas señalizadoras
- Andamios o matrices de apoyo (Fig. 2).<sup>8</sup>



**Figura 2. Triada de la ingeniería tisular.<sup>8</sup>**

## 5.1. Células

En la terapia celular el objetivo es mejorar el proceso de regeneración con células de un sitio donador, las cuales posteriormente se van a diferenciar y ayudarán a la regeneración de los tejidos blancos donde sean aplicadas.<sup>10</sup>

La terapia celular ha sido empleada en la cirugía periodontal. La aplicación más común involucra la estrategia de expansión celular en un ambiente *ex vivo*, seguida de la trasplante en el área del defecto para así reducir o eliminar recesiones gingivales. Este tratamiento ha sido el objetivo de la mayoría de los estudios de la terapia celular.<sup>8</sup>

Pini Prato y colaboradores cultivaron fibroblastos sembrados en injertos de matrices a base de bencihidroxiapatita con ésteres de ácido hialurónico tridimensionales no tejidos. A pesar de que los injertos sanaron adecuadamente, el incremento del grosor de la encía insertada varió entre los diferentes experimentos. Más tarde, Momose y colaboradores usaron un método similar sembrando tejido de encía insertada conformada de epitelio y tejido conectivo proveniente del tejido de la zona retromolar sobre una membrana de dos capas de colágena y silicona.<sup>10</sup>

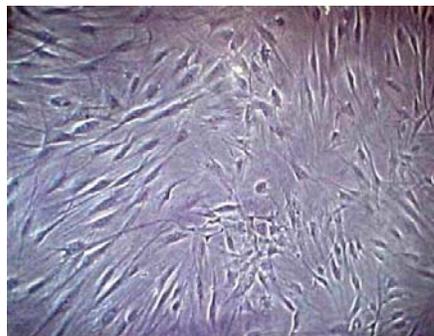


Figura 3. Cultivo de fibroblastos para su aplicación en ingeniería tisular.<sup>11</sup>



Después de la expansión celular, el injerto fue utilizado como tejido donado reportando que el injerto compuesto de factor de crecimiento vascular endotelial y factor de crecimiento transformador delta había mejorado la curación de la herida.<sup>8</sup>

Después de observar estos avances en la terapia celular y en especial el método de experimentación usado en las terapias con fibroblastos, los resultados mostraron que tal método tenía éxito con otros tipos de células. Debido a esto, la aplicación de la terapia celular en la ingeniería tisular es uno de los campos más investigados en esta área.<sup>8</sup>

## **5.2. Moléculas señalizadoras**

Desde finales de los años 90 del siglo XX, la investigación de la ingeniería tisular ha tenido dos enfoques, los cuales involucran preparaciones que contienen mediadores biológicos para ayudar a las células que pueblan la herida periodontal. El primero de ellos utilizó preparaciones semi-purificadas, tales como la matriz derivada del esmalte y preparaciones de plasma rico en plaquetas autólogo. El segundo utilizó tecnología recombinante de factores de crecimiento, tal como el factor de crecimiento derivado de plaquetas BB, el factor de crecimiento fibroblástico humano y morfogenes como las proteínas morfogenéticas óseas. Estos mediadores biológicos mejoraron la regeneración periodontal y ósea de extensiones variables y hoy en día, todos están comercialmente disponibles con la excepción del plasma rico en plaquetas, el cual se prepara antes de su uso.<sup>8</sup>

Entre los materiales disponibles de moléculas señalizadoras se encuentran: el plasma rico en plaquetas, la matriz derivada del esmalte, los factores de crecimiento biomiméticos y los morfogenes o factores diferenciadores: proteínas morfogenéticas óseas. Cada uno de estos se explicará a continuación.



- **Plasma rico en plaquetas**

El uso del plasma rico en plaquetas como fuente de factores de crecimiento y de regeneración periodontal propuesto en varios enfoques, en esta técnica, la sangre autóloga es centrifugada y separada en tres fracciones; éstas son:

- Plasma pobre en plaquetas (Pegamento de fibrina o adhesivo)
- Plasma rico en plaquetas
- Células sanguíneas rojas.<sup>8</sup>

En el plasma rico en plaquetas existe una mezcla de factores de crecimiento los cuales estimulan la proliferación de fibroblastos y células del ligamento periodontal, la formación de matriz extracelular y la neovascularización. Además, el plasma rico en plaquetas puede suprimir la liberación de citoquinas y limitar la inflamación promoviendo la regeneración tisular.<sup>8</sup>

La principal desventaja de este plasma en la terapia periodontal es que acelera el proceso de regeneración epitelial lo que puede tener como resultado una regeneración ósea y periodontal imprecisa.<sup>8</sup>

Aunque no es completamente efectivo para la regeneración periodontal, el plasma rico en plaquetas es utilizado para estabilizar materiales de injerto para el aumento en el sitio para implantes y parece mejorar la curación temprana del tejido blando.<sup>8</sup>

- **Matriz derivada del esmalte**

La matriz derivada del esmalte cultivada a partir de dientes de cerdo en desarrollo, ha sido reportada como un inductor de la regeneración periodontal. La razón por la cual se da el mecanismo de acción se debe a que la matriz derivada del esmalte contiene una combinación de proteínas de bajo peso molecular que estimula el crecimiento celular y la



diferenciación de células mesenquimatosas, incluyendo a los osteoblastos.<sup>8</sup>

Se ha demostrado que la matriz derivada del esmalte contiene factor de crecimiento transformador beta y que estimula a la proteína morfogenética ósea, transformando así el factor de crecimiento transformador beta y el factor de crecimiento del tejido conectivo en células osteoblásticas, contribuyendo así la proliferación y al desarrollo de células creadoras de hueso.<sup>8</sup>

Además, la matriz derivada del esmalte estimula directamente la angiogénesis estimulando directamente la proliferación de células endoteliales y la quimiotaxis y estimula el factor de crecimiento de células endoteliales vasculares por la producción de células del ligamento periodontal. Cuando ésta se aplica sobre las superficies de las raíces, las proteínas son absorbidas dentro de la hidroxiapatita y las fibras de colágena de la superficie radicular en donde inducen a la formación de cemento seguido de la regeneración periodontal.<sup>8</sup>

- **Factores de crecimiento biomiméticos**

Los factores de crecimiento son proteínas naturales que refilan ciertos aspectos del crecimiento y desarrollo celular y algunos de estos se encuentran en la matriz ósea. Durante la curación de las heridas, estos factores de crecimiento modulan la proliferación celular, la migración, la formación de la matriz extracelular y otras funciones celulares. Adicionalmente, algunos factores de crecimiento pueden funcionar como factores de diferenciación celular. La regeneración periodontal se ha enfocado en el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el factor de crecimiento fibroblástico básico 2.<sup>8</sup>

- **Morfogenes o factores diferenciadores: proteínas morfogenéticas óseas**

Las proteínas morfogenéticas óseas son un grupo de glucoproteínas reguladoras las cuales son miembros de la superfamilia del factor de crecimiento transformador beta. Estas moléculas estimulan principalmente la diferenciación mesenquimática de las células madre en condroblastos y osteoblastos. Al menos siete proteínas morfogenéticas óseas provenientes de fuentes humanas y bovinas han sido aisladas. En el campo de la regeneración periodontal, la investigación se ha enfocado en la proteína morfogenética ósea 2 (OP-2), en la proteína morfogenética ósea 3 (osteogenina) y en la proteína morfogenética ósea 7 (OP-1).<sup>8</sup>

### 5.3. Andamios

Los andamios tienen una función de gran relevancia en la ingeniería tisular debido a que actúan como matrices extracelulares artificiales temporales para la distribución celular, su proliferación y diferenciación de acuerdo a su función. Además, sirven como un templete tridimensional para la formación de un tejido nuevo o un órgano nuevo (Fig. 4).

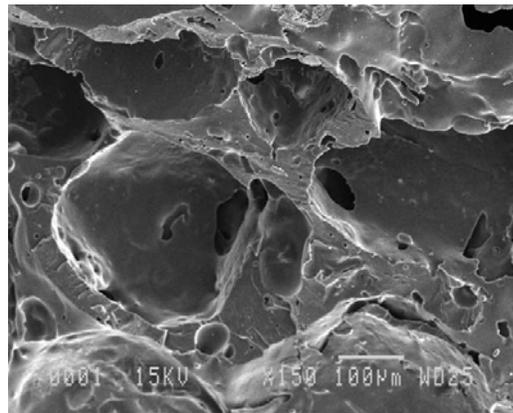


Figura 4. Andamio utilizando en ingeniería tisular.<sup>12</sup>



La función de un andamio o matriz es apoyar a las células que van a provocar la regeneración tisular. Los cuatro factores principales que deben tenerse en cuenta para la selección de un andamio para una aplicación en particular son:

- Biocompatibilidad.
- Porosidad.
- Bioestabilidad.
- Propiedades mecánicas.

Para que un andamio sea exitoso es necesaria la existencia de un balance entre la función mecánica y la entrega de biofactores proporcionando así una transición secuencial en la cual, el tejido regenerado asume funciones mientras el andamio se degrada.<sup>13</sup>

Los avances en el diseño de andamios deben ser capaces de crear estructuras porosas para atender a la función jerárquica, a una función mecánica deseada, así como propiedades de transporte masivo, además de producir estas estructuras dentro de formas anatómicas tridimensionales complejas.<sup>13</sup>

La función jerárquica se refiere a que las características a escalas de niveles nanométricos y milimétricos determinarán que tanto el andamio cumple con la función mecánica conflictiva y el transporte masivo requerido.<sup>13</sup>

Sin embargo, los requerimientos de transporte masivo para la nutrición celular, los canales porosos para la migración celular, y las características de la superficie para la adhesión celular necesitan una estructura porosa en el andamio. Esta estructura porosa dicta qué propiedades son factibles y cuáles no servirán. El problema crítico para el diseño radica en calcular el valor preciso de las propiedades mecánicas -así como de transporte



---

masivo- a la escala dada, esto basándose en las propiedades microscópicas y estructurales.<sup>13</sup>

Una manera de lograr el diseño jerárquico es crear librerías de unidades celulares a diferentes escalas físicas que pueden ser ensambladas para formar andamios arquitectónicos; para estos fines puede ser utilizada la tecnología de CAD-CAM.<sup>13</sup>



## 6. ANDAMIOS EN INGENIERÍA TISULAR PARA TEJIDOS PERIODONTALES

Los andamios biológicamente activos son materiales altamente porosos que están basados análogamente en la matriz extracelular de los tejidos a los que va dirigida la ingeniería tisular, y los cuales inducen la síntesis de tejidos y órganos.<sup>14</sup>

Hay una enorme variedad de opciones para seleccionar andamios para la ingeniería tisular; sin embargo, de manera general, los andamios están hechos de biomateriales poliméricos, los cuales proveen soporte estructural para la unión celular y para el desarrollo tisular subsecuente.<sup>14</sup>

La actividad de los andamios se ha considerado como una inducción de procesos sintéticos complejos en sitios anatómicos donde una parte de un tejido ha sido recientemente eliminado debido a un trauma accidental o a una intervención quirúrgica.

Los andamios basados análogamente en la matriz extracelular son caracterizados por una fracción de poro muy alta -en promedio, el tamaño del poro está en el rango de 5 a 500 micrómetros.

Su composición química consiste en colágena tipo I y II así como de copolímeros para injerto de colágena y glicosaminoglicanos. Éstos son sintetizados como polímeros o copolímeros altamente porosos.<sup>2</sup>

Las matrices de soporte para la ingeniería tisular dirigidas a tejido óseo y tejido blando para la regeneración de los tejidos periodontales incluyen los aloinjertos óseos procesados, las cerámicas sintéticas, el colágeno bovino tipo I y el sulfato de calcio entre muchos otros.



Los roles más importantes de los andamios en los tejidos periodontales son:

- Proveer soporte físico para el área de curación y así evitando que haya colapso del tejido circundante en el sitio de la herida.
- Fungir como barrera para restringir la migración celular de una manera selectiva. Esto se ejemplifica claramente por los principios de regeneración tisular guiada y regeneración ósea guiada.
- Ser andamios para la migración celular y la proliferación.
- Servir como potencializadores como un mecanismo de liberación de moléculas señalizadoras.<sup>15</sup>

### **6.1. Funciones análogas de los andamios y la matriz extracelular**

Se dice que dos estructuras son análogas si cumplen funciones parecidas por medios semejantes, sin que se requiera que tengan el mismo origen.

Intuitivamente el mejor andamio para un tejido con ingeniería tisular debe ser la matriz extracelular del tejido blanco en su estado natural; sin embargo, las múltiples funciones, la compleja composición, así como la naturaleza dinámica de la matriz extracelular de los tejidos naturales hace muy difícil imitarla exactamente. Por lo tanto, el concepto contemporáneo de andamio en la ingeniería tisular es imitar las funciones de la matriz extracelular nativa, al menos parcialmente.<sup>14</sup>

Como resultado, las funciones importantes que juegan los andamios en la ingeniería tisular, son análogas a las funciones de la matriz extracelular y



son asociados con sus propiedades arquitectónicas, biológicas y mecánicas. Estas funciones y características son:

- Arquitectura. Los andamios deben proveer un espacio para la vascularización, la formación y remodelación del nuevo tejido, esto para facilitar la implantación del injerto sobre el tejido huésped. Los biomateriales deben de ser procesados para dar una estructura lo suficientemente porosa para el transporte eficiente de nutrimentos y metabolitos sin comprometer la estabilidad mecánica del andamio.<sup>13</sup>
- Los biomateriales deben ser degradables después de la implantación; esto en sincronía con la tasa de producción de nueva matriz que genera en tejido en desarrollo.<sup>14</sup>
- Compatibilidad cito-tisular. Los andamios deben proveer soporte ya sea aplicado de manera externa o para unir células endógenas, crecer y diferenciarse en implantaciones *in vivo* e *in vitro*. Los biomateriales utilizados para fabricar los andamios necesitan ser compatibles con los componentes celulares de los tejidos con ingeniería tisular, así como con las células endógenas del tejido hospedero.<sup>14</sup>
- Bioactividad. Los andamios pueden interactuar activamente con los componentes de los tejidos de ingeniería tisular para facilitar y regular sus actividades. Los biomateriales pueden incluir señales biológicas tales como los ligandos para adhesión celular y así estimular la unión o las señales físicas tales como la topografía que influencia la morfología celular y su alineación. El andamio también servirá como un vehículo repartidor o un reservorio para señales exógenas estimulantes del crecimiento, tales como los factores de crecimiento para agilizar la regeneración. Con respecto a esto, los



biomateriales necesitan ser compatibles con las biomoléculas y con el sujeto con el fin de tener una encapsulación técnica para la liberación controlada de biomoléculas con bioactividad retenida.<sup>14</sup>

- Propiedades mecánicas. Los andamios proveen estabilidad mecánica y forman al defecto del tejido. Las propiedades mecánicas intrínsecas de los biomateriales usadas para el andamiaje de sus propiedades posteriores a su procesamiento las cuales deben de igualar aquellas del tejido huésped. Estudios recientes en biología mecánica han resaltado la importancia de las propiedades mecánicas de los andamios en las células sembradas.<sup>14</sup>

## **6.2. Andamios porosos pre-fabricados para el cultivo celular**

Desde los inicios de la ingeniería tisular, el cultivo celular terapéutico en andamios porosos pre-fabricados elaborados con materiales biodegradables se ha convertido en una técnica comúnmente usada y bien establecida de andamiaje.<sup>14</sup>

Varios tipos de biomateriales pueden ser utilizados para realizar andamios porosos para la ingeniería tisular, siempre que esté disponible una tecnología de fabricación compatible con las propiedades de los biomateriales.<sup>14</sup>

En general, los materiales utilizados para la elaboración de andamios porosos para la ingeniería tisular pueden estar agrupados en dos categorías de acuerdo a donde se obtienen, ya sean de biomateriales naturales y los sintéticos. Los biomateriales naturales pueden obtenerse de sus fuentes naturales y procesadas para hacer andamios porosos. Estos materiales pueden estar en su forma natural, tales como la matriz



extracelular de los aloinjertos y xenoinjertos; o bien, puede estar en forma de bloques de construcción pequeños, los cuales incluyen a las cerámicas inorgánicas tales como los fosfatos de calcio y polímeros orgánicos como las proteínas, los polisacáridos, los lípidos y los polinucleotidos.<sup>14</sup>

A continuación se explican los biomateriales naturales y los sintéticos, ofreciendo además algunas características sobre estos.

**Naturales.** Los biomateriales naturales, normalmente tienen una óptima biocompatibilidad, a través de la cual, las células pueden adherirse y crecer con una viabilidad excelente.<sup>14</sup>

Sin embargo, un problema de los materiales naturales es su estabilidad física y mecánica, la cual es limitada, causando que estos materiales no sean adecuados para ciertas aplicaciones. Considerando esto, los investigadores que utilizan los biomateriales naturales desarrollan tecnologías para mejorar y reforzar la estabilidad mecánica y forma de los biomateriales naturales. Otro problema que presenta este tipo de materiales es la inmunogenicidad potencial, debido a que los biomateriales naturales ya sean de fuentes alogénicas o genogénicas pueden ser antígenos para el huésped. Con el objetivo de reducir la inmunogenicidad, algunos los investigadores han sido atraídos por tecnologías como la remoción de telopéptidos en la procolágena.<sup>14</sup>

**Sintéticos.** Los materiales sintéticos pueden ser categorizados generalmente en inorgánicos -como los biovidrios-, y en orgánicos -como los polímeros sintéticos. Generalmente se considera que los biomateriales sintéticos tienen propiedades físicas y mecánicas que pueden controlarse mejor y que pueden ser utilizados para modelar tejidos blandos y tejidos duros. Sin embargo, para los biomateriales sintéticos, la biocompatibilidad resulta un problema debido a que las células pueden tener mayor dificultad para adherirse y crecer en estos materiales. Por lo



tanto, varios procesos que modifican las propiedades de la superficie y el volumen han sido desarrollados para mejorar su biocompatibilidad.<sup>14</sup>

Con el desarrollo de los composites, ha habido un gran avance en las combinaciones de materiales para hacer andamios porosos. Múltiples tipos de biomateriales con propiedades distintas pueden ser mezclados y fabricados para ser moldeados para alguna aplicación particular.<sup>14</sup>

### **6.3. Procesos de obtención de andamios**

La producción de andamios de MEC requiere el uso de procesos mecánicos, químicos, y enzimáticos que eliminen el componente celular y esterilicen al andamio. Estos métodos pueden afectar la composición, ultraestructura, y las propiedades mecánicas del andamio resultante, y potencializar la respuesta del huésped con su uso. El objetivo del protocolo de la remoción del componente celular es remover la mayor parte del material celular posible con efectos mínimos sobre la estructura del tejido específico y los componentes funcionales del andamio. La eficacia del protocolo de descellularización depende del tejido que está siendo descellularizado, y de los métodos para realizarlo. Se ha mostrado que los andamios de MEC, independientemente del método utilizado, retienen cantidades pequeñas de material celular que permanece en la MEC. Sobre las consecuencias del material celular que permanece en el andamio se puede decir que grandes cantidades de material celular pueden estar asociadas con una respuesta inmune adversa.<sup>6</sup>

En la última década, el desarrollo de tecnologías de fabricación para los andamios porosos ha sido un área de investigación intensiva. En general, estas tecnologías están clasificadas en:

- **Procesos que utilizan porógenos en biomateriales**

Esta categoría se refiere a los materiales sólidos, en su presentación también sólida, o disueltos en solventes. Estos materiales son incorporados con porógenos, los cuales pueden ser gases -como el dióxido de carbono-, líquidos -como agua- o sólidos -como la parafina. Las mezclas son procesadas y después pueden ser fundidas o extruida y los porógenos son removidos después de la fabricación usando métodos tales como sublimación, evaporación y derretimiento para dejar atrás una estructura porosa en el andamio.<sup>14</sup>

- **Tecnologías de prototipos rápidos o sólidos en forma libre**

La segunda categoría alude a que algunas tecnologías de fabricación de sólidos en estado libre como la sinterización selectiva con laser, la estereolitografía y la impresión en 3D (Fig. 5), dependen de la entrega precisa de luz, calor o energía en un sistema de escáner que va a puntos en el espacio del material, lo cual sirve de base para la unión o reticulación de los materiales para dar estructuras solidas y por el contrario una base soluble para el material.

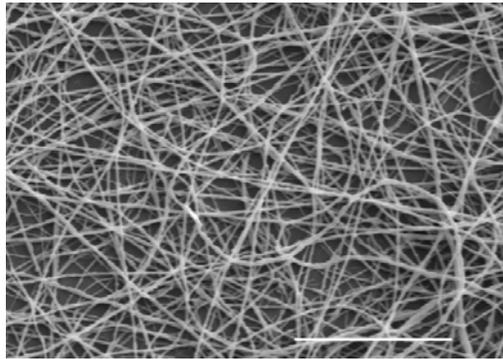
Algunas tecnologías de fabricación de sólidos en estado libre, tales como la impresión en cera, dependen o están basadas en la entrega simultanea de materiales de soporte removibles en una impresión capa por capa.<sup>14</sup>



Figura 5. Andamio obtenido por medio de tecnología CAD-CAM.<sup>16</sup>

- **Técnicas que utilizan fibras tejidas o no tejidas.**

La tercera categoría se refiere a que las estructuras tejidas o no tejidas pueden ser apiladas entre sí y unidas usando energía térmica o adhesivos para proporcionar una malla porosa. Para esto se usan técnicas como la unión de fibras, o fibras que pueden ser generadas por la técnica de *electrospinning* (Fig. 6), en la cual se inyecta un alto voltaje en una solución de polímero donde las fuerzas electrostáticas se reúnen para convertirse en la superficie de tensión de la solución polimérica y por lo tanto formar un hilado de fibra.<sup>13</sup>



**Figura 6. Andamio obtenido con técnica de electrospinning.**<sup>17</sup>

Uno de los enfoques de esta técnica se basa en el uso de andamios porosos prefabricados tiene numerosas ventajas. Por ejemplo, a través eses posible elegir una gran diversidad de biomateriales, los cuales en su mayoría, oscilan entre cerámicas e hidrogeles que tienen tecnologías de fabricación aptas. En segundo lugar, en el andamiaje se pueden incorporar diseños relativamente precisos en arquitectura y microestructura. Por consiguiente, las propiedades físico-químicas de los andamios porosos pueden ser sometidas a ingeniería para imitar propiedades físicas de la matriz extracelular nativa en los tejidos blancos.<sup>13</sup>

Lo anterior resulta adecuado para hacer tejidos portadores en donde las propiedades mecánicas son importantes. Sin embargo, este acercamiento



tiene también ciertas desventajas. En particular, después de la fabricación, el cultivo celular en andamios porosos es ineficiente por el tiempo invertido en ello y por la limitada habilidad de penetración de las células en el andamio. Esto usualmente lleva a una distribución no homogénea de las células en los andamios y por consiguiente a propiedades heterogéneas en los tejidos que fueron sometidos a ingeniería tisular, por lo que la agitación, perfusión, y poros de mayor tamaño son necesarios para permitir el cultivo celular eficaz. Sin embargo, estos métodos no están libres de problemas como la baja viabilidad celular y su alto costo.<sup>13</sup>

#### **6.4. Mecanismos por los cuales los andamios promueven la remodelación constructiva del tejido**

Mientras que los mecanismos exactos en los cuales subyace la habilidad de los materiales del andamio para promover la remodelación tisular aún no han sido divulgados, existen sinnúmero de elementos con roles es de gran relevancia. Dentro de ellos se encuentran la habilidad del material del andamio para degradarse rápidamente con la liberación de péptidos bioactivos; la habilidad del andamio para reclutar poblaciones celulares progenitoras u otras del tejido específico a los sitios de la remodelación tisular; la habilidad del material del andamio para responder a la estimulación ambiental local; y la habilidad del material del andamio para provocar una respuesta del huésped, la cual no resulte una reacción a cuerpo extraño o un rechazo del injerto.<sup>5</sup>

#### **6.5. Andamios para tejidos blandos**

El andamio que les sirve de apoyo a las células es un elemento de gran relevancia en la reconstrucción del epitelio y la mucosa. Por ello, escoger el andamio adecuado con una ideal biocompatibilidad, porosidad,



bioestabilidad además de propiedades mecánicas es un paso crucial en la ingeniería tisular.<sup>14</sup> Los andamios utilizados en la reconstrucción de epitelio y mucosa se clasifican en diferentes categorías. Según tales categorías, los andamios son los siguientes.

- Andamios derivados naturalmente, tales como la dermis acelular y la membrana amniótica.
- Substitutos de piel poblados con fibroblastos.
- Andamios basados en colágena.
- Andamios a base de gelatina
- Materiales a base de fibrina.
- Andamios sintéticos, tales como polímeros.
- Andamios híbridos, los cuales son combinaciones de matrices naturales y sintéticas.<sup>14</sup>

### **6.5.1. Andamios derivados naturalmente**

Las matrices de origen natural se pueden dividir en 2 grupos: la dermis acelular y la de la membrana amniótica. Ambas tienen su origen en productos naturales. Sobre sus diferencias, hay que decir que la dermis acelular se utiliza con mayor frecuencia que la membrana amniótica y que una ventaja de la utilización de un material natural es que este es rápidamente y fácilmente reconocido por el organismo del huésped.<sup>8</sup>

#### **6.5.1.1 Dermis acelular humana**

La dermis acelular de cadáver (Alloderm™) fue utilizada por Izumi y colaboradores como andamio para la ingeniería tisular de la mucosa oral. El Alloderm™ es una dermis de cadáver humano acelular, no inmunogénica que se caracteriza porque en una de sus caras laterales tiene una lámina basal adecuada para células epiteliales, y en la otra, canales receptores intactos adecuados para la infiltración de fibroblastos.

Sus aplicaciones incluyen:



- Cobertura de raíz.
- Aumento de encía.
- Aumento de la cresta en tejido blando.
- Aumento de tejido blando alrededor de implantes.<sup>18</sup>

Una matriz de dermis acelular tiene una estructura porosa y fibrilar similar a la dermis nativa, la cual es preparada utilizando una técnica de liofilización después del tratamiento de descélularización.<sup>19</sup>

Desde la introducción en la odontología en 1994, Alloderm™ ha sido ampliamente aceptada como una matriz de dermis acelular para aplicaciones en tejidos blandos. Alloderm™ apoya la regeneración tisular permitiendo la rápida revascularización, la migración y proliferación de células blancas, siendo un fuerte tejido huésped para la reparación natural.<sup>15</sup>

Las matrices acelulares contienen la matriz la cual está basada en materiales naturales sintéticos o naturales con la estructura física y química requerida, permitiendo así el fácil acceso de las células del huésped durante la curación de la herida.<sup>19</sup>

Este injerto ha sido utilizado recientemente como sustituto para el paladar en un sitio donante en cirugías de tejido blando alrededor de dientes naturales e implantes para incrementar la zona de tejido queratinizado.

Este aloinjerto se obtiene de cadáveres humanos, de los cuales se remueve la dermis y el componente celular de la dermis. De esta manera, la integridad ultraestructural de la matriz extracelular es conservada; la matriz dérmica presenta colágena y elastina que no han sido dañadas llevando a una respuesta inflamatoria de parte del tejido hospedero.<sup>20</sup>

Removiendo todos los componentes celulares, la fuente de transmisión de enfermedades y la reacción inmunológica es minimizada, dejando así una matriz de tejido conectivo intacto estructuralmente compuesta de colágena tipo I. Por lo tanto, el tejido es considerado acelular y no inmunogénico, y la regeneración tiene lugar debido al repoblamiento y revascularización en vez de generar una cicatriz con tejido de granulación (Fig.7).

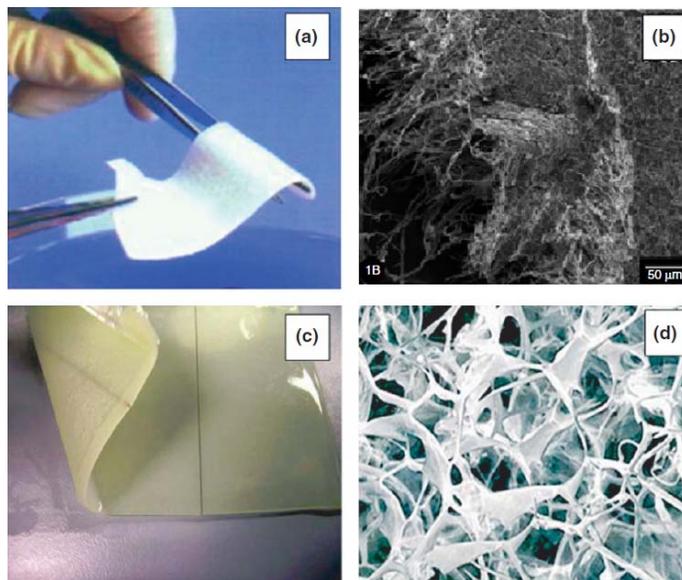


Figura 7. (a) Alloderm™ en su forma natural, (b) Microscopía electrónica de la superficie, (c) Alloderm™ con una capa de silicón in situ. (d) Estructura porosa del andamio.<sup>21</sup>

El uso de este injerto ha sido recomendado para ser usado para incrementar la zona de encía insertada alrededor de dientes e implantes, obteniendo así la cobertura de la raíz en recesiones gingivales, para preservar o incrementar el grosor de la encía en áreas edéntulas, y para eliminar pigmentaciones melánicas en la encía.<sup>20</sup>

La cirugía con dermis acelular es muy sencilla y lo que proporciona es una matriz que consiste en colágeno, elastina, proteínas, vasos sanguíneos y canales. Estas estructuras propician la revascularización y la repoblación celular obteniendo así una remodelación.



Para su colocación se busca colocar la matriz en contra el tejido conectivo donde hay irrigación sanguínea de parte del huésped y la membrana basal forma la capa externa que está expuesta a la cavidad oral.<sup>10</sup>

#### **6.5.1.2. Dermis Desepitelizada (DED)**

La dermis desepitelizada (DED) es un preparado de piel de espesor dividido por la remoción de fibroblastos dérmicos y epidérmicos derivados de la dermis (Fig.8), utilizada ampliamente en la preparación de composites de epidermis y dermis humana, y para la reconstrucción *in vitro* de la mucosa epitelial del paladar duro humano. La mucosa desepitelizada lingual bovina ha sido también utilizada como sustrato para cultivo de queratinocitos.

Las ventajas que han hecho a la DED un andamio popular son: buena durabilidad y antigenicidad reducida; habilidad para retener sus propiedades estructurales, aún después de ser congelada en el proceso de liofilización; y la posibilidad de ser conservada en glicerol. Se ha mostrado que los substitutos de mucosa oral compuestos por queratinocitos orales cultivados en sustratos derivados de la piel, muestran características histológicas e inmunohistoquímicas muy parecidas a las de la mucosa normal. Sin embargo, los exámenes cercanos a los equivalentes a la mucosa basados en la DED han revelado una infiltración de fibroblastos muy limitada en este andamio al compararla con la mucosa oral normal.<sup>15</sup>

Los substitutos de la mucosa, en las cuales se encuentran estas matrices muestran características histológicas e inmunohistoquímicas que son muy similares a las de la mucosa normal. Los substitutos de la mucosa sobre la

base de estas matrices pueden estar compuestos de queratinocitos orales solos o en combinación con fibroblastos.<sup>10</sup>

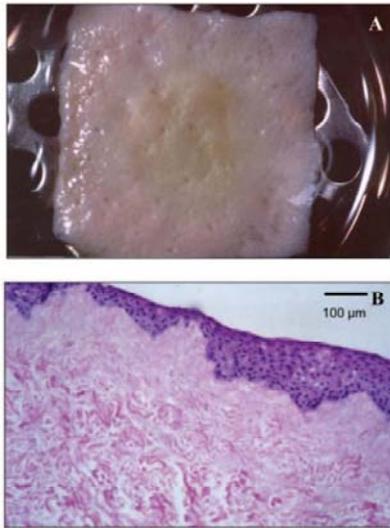


Figura 8. Vista macroscópica e histológica de un injerto de DED.<sup>15</sup>

### 6.5.2. Membrana amniótica

La membrana amniótica es la capa más interna de la membrana placentaria. Esta ha sido utilizada como material quirúrgico en una gran variedad de campos. Un conjunto de características específicas hacen a la membrana amniótica un injerto ideal, y es que ésta tiene propiedades anti inflamatorias, actividad antifibroblásticas, es antimicrobiana y antigénica y tiene una inmunogenicidad muy limitada. Adicionalmente, esta provee un nuevo sustrato sano adecuado para la re-epitelización.<sup>23</sup>

La membrana amniótica puede ser utilizada como un sustrato para el cultivo de células epiteliales orales. Además se ocupa también para la reconstrucción de tejido ocular. Nakamura y colaboradores desarrollaron una matriz de ingeniería tisular con base a esta membrana para generar epitelio oral con un gran número de desmosomas contenidas y unidas a

una membrana basal mediante hemidesmosomas. En su modelo, las células del epitelio eran capaces de crear queratina (Fig.9).<sup>10</sup>

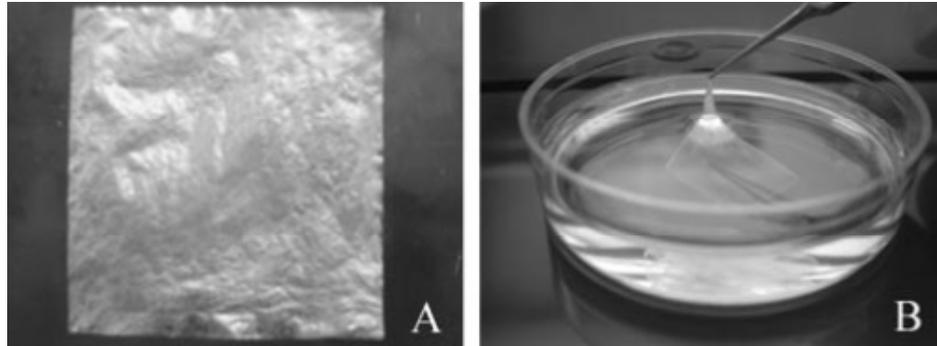


Figura 9. Membrana amniótica liofilizada (A) esterilizada e (B) hidratada.<sup>23</sup>

### 6.5.3. Sustitutos de piel poblados con fibroblastos

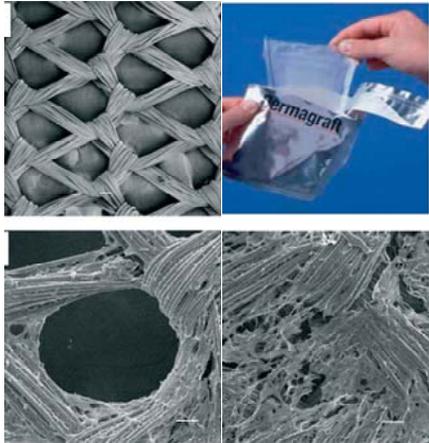
Existen sustitutos de piel cultivados que se componen de un injerto autólogo en el cual están cultivados queratinocitos epidérmicos como un componente de colágeno y un sustrato de gluconaminoglucano impregnado con fibroblastos autólogos como un componente dérmico. Éstos tienen como base una matriz de colágeno alrededor del injerto.<sup>10</sup>

Los andamios poblados con fibroblastos incluyen varios equivalentes de piel vivos disponibles comercialmente. Dermagraft™, desarrollado por Advanced Tissue Sciences Inc., es un sustituto de dermis compuesta de una malla de polímero biodegradable poblada con fibroblastos dérmicos.<sup>14</sup>

Dermagraft™ es un sustituto dérmico derivado de fibroblastos criopreservados y compuesto de fibroblastos, matriz extracelular, y un andamio bioabsorbible.<sup>10</sup>

Dermagraft™ es fabricado a base de fibroblastos humanos derivados de tejido donado del prepucio de recién nacidos. Durante el proceso de fabricación, los fibroblastos humanos son sembrados en un andamio a base de una malla de poliglactina bio absorbible. Los fibroblastos

prolifera para rellenar los intersticios de este andamio y secretan colágena dérmica humana para crear un sustituto dérmico tridimensional humano que contiene células vivas y metabólicamente activas. El Dermagraft™ no contiene macrófagos, linfocitos, vasos sanguíneos, o folículos pilosos (Fig. 10).<sup>10</sup>



**Figura 10.** Imágenes de microscopía electrónica del Dermagraft™.<sup>18</sup>

Otro producto, Aligraf™ (Graft Skin), desarrollado por Organogénesis Inc., es un injerto de composite compuesto de queratinocitos alógenos cultivados en un gel de colágena bovino poblado con fibroblastos. Los queratinocitos son expuestos a un medio aire/líquido para promover la formación de un estrato córneo.<sup>10</sup>

Otros substitutos de piel incluyen al Orcel™, Poluactive™, y HyAligraf™ 3D™. Los fibroblastos dentro de estos andamios proliferan, y producen matriz extracelular y factores de crecimiento en de 2 a 3 semanas, creando una matriz parecida a la dermis.<sup>14</sup>

#### **6.5.4. Andamios basados en colágena**

Los andamios basados en colágena se dividen en dos categorías principales las cuales son andamios de colágena pura y andamios de colágena compuesta. Estas se explican a continuación.



#### **6.5.4.1. Andamios de colágena pura**

En 1996, Masuda y colaboradores desarrollaron el primer modelo *in vitro* de mucosa de espesor total cultivando queratinocitos gingivales normales en geles de colágena de piel bovina (CCG) que contenían fibroblastos, y co-cultivando en un medio de reconstrucción en una interface aero-liquida por 10 días.<sup>24</sup> Como resultado, se obtuvo un modelo de mucosa bien diferenciado, que fue similar a los tejidos nativos.

Moriyama y colaboradores modificaron este método y desarrollaron un composite de mucosa oral cultivado utilizando una esponja de matriz aloplástica de colágena tipo I con CGC. Su modelo de mucosa estaba compuesto por una lámina propia, en la cual fueron embebidos los fibroblastos en CGC, y una esponja de colágena con estructura de panal y capas de células del epitelio estratificado en la superficie de la lámina propia cultivada. El resultado positivo de este modelo es que el gel de colágena da soporte a los fibroblastos, el cual provee un sustrato adecuado para la formación de multicapas de queratinocitos, y prevé la invasión de células epiteliales y formación de islas en la capa del tejido conectivo. Como andamio, la matriz de colágena es biocompatible, y se utiliza en periodoncia para proteger los injertos óseos para la regeneración de tejido sin tener invasión de células epiteliales.<sup>24</sup>

#### **6.5.4.2. Andamios de colágena compuesta**

Varias matrices basadas en colágena compuesta han sido introducidas para mejorar la función de los andamios para la ingeniería tisular. Estos incluyen: andamios de colágena-quitosano, membranas de colágena-elastina, matriz de colágena-glucosaminoglucano (C-GAG), y andamios de colágena-GAG-quitosano.



El quitosano, sustancia de origen natural, y es un biopolímero hidrofílico obtenido por la deacetilación alcalina de la quitina. Este ha sido recomendado como un andamio adecuado para la regeneración tisular por su alta biocompatibilidad, biodegradabilidad, su no antigenicidad y sus propiedades de absorción.<sup>14</sup> Además, el quitosano es químicamente similar a la celulosa y se deriva de la quitina, un polisacárido encontrado en el exoesqueleto de mariscos tales como los camarones o cangrejos.

El quitosano funciona como un puente para incrementar la eficiencia reticular del glutaraldehído debido a la larga cadena de grupos amino. Los glucosaminoglicanos son elementos esenciales de la matriz extracelular, compuestos por polímeros largos no ramificados de unidades repetidas de disacáridos, una de las cuales es un amino azúcar. El cartílago de tiburón es una de las posibles fuentes de GAGs, así como la tráquea bovina, y los cartílagos porcinos. Algunas GAGs tales como el condroitin sulfato y el ácido hialurónico son hidrofílicas, las cuales atraen una gran cantidad de agua y de esta manera forman geles hidratados, permitiendo que las moléculas hidrosolubles se difundan rápidamente. Los fibroblastos cultivados dentro de una esponja de CGC expresan una síntesis de colágena significativamente incrementada, comparada con la de los fibroblastos cuando estos son cultivados en un gel de colágena y cuando se cultivan fibroblastos de una sola capa.<sup>14</sup>

Por lo anterior, se considera a los andamios de colágena compuesta como materiales adecuados la ingeniería tisular. Tomando esto en cuenta, a continuación se mencionan sus usos de manera general:

- Cultivo de fibroblastos gingivales.
- Aumento del grosor de encía queratinizada
- Aumento de encía insertada.<sup>14</sup>

### 6.5.5. Andamios basados en gelatina

Los materiales basados en gelatina tales como las matrices de gelatina-glucan, gelatina-hialuronato, y gelatin-quitosano-acidohialurónico han sido desarrollados para la ingeniería tisular de piel. La forma desnaturalizada de la colágena gelatina es no antigénica, atrayente de fibroblastos el cual es un activador de macrófagos; además esta, promueve la epitelización y la formación de tejido de granulación y se añade ácido hialurónico para mejorar las propiedades biológicas y mecánicas de estos andamios.<sup>14</sup>

### 6.5.6. Andamios basados en fibrina

La matriz de fibrina ha sido usada por la construcción in vitro de cartílago humano, piel, y hueso. El Bioseed™, desarrollado por BioTissue Technologies GmbH, es un sustituto de piel, compuesto por sellador de fibrina con queratinocitos autólogos humanos cultivados, la matriz de pegamento de Fibrina proporciona suficiente estabilidad adherente a los queratinocitos injertados en estado de proliferación activa. Otra ventaja es que son fáciles de reproducir e injertar, así como la reducción del tiempo de la operación y los costos (Fig. 11).<sup>14</sup>

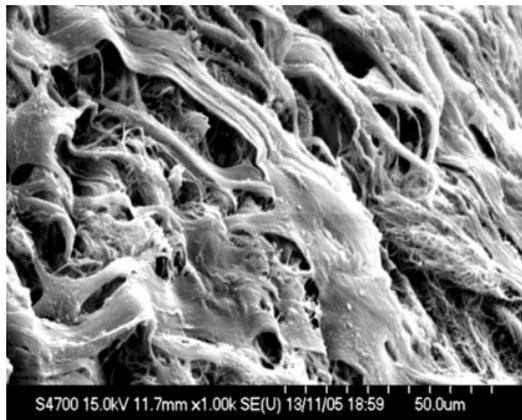


Figura 11. Andamio basado en fibrina.<sup>25</sup>



Como se mencionó antes, los materiales naturales poseen muchas ventajas que los han hecho populares como andamios para la ingeniería tisular. Sin embargo, estos materiales también tienen algunas desventajas, por ejemplo, muchos de ellos son aislados de tejidos animales o humanos, y no están disponibles en grandes cantidades. Estos experimentan grandes variaciones entre lote y lote, y generalmente son caros. Adicionalmente, estos materiales exhiben un rango limitado de propiedades físicas. Estos inconvenientes han llevado a los investigadores a considerar el uso de materiales sintéticos para fabricar matrices que puedan ser utilizadas en la ingeniería tisular de piel y mucosa oral.<sup>14</sup>

#### **6.5.7. Andamios sintéticos**

Las membranas de policarbonatos permeables están disponibles comercialmente y son usadas en modelos epiteliales de espesor parcial. El uso exitoso de un co-polímero biodegradable segmentado de poli (ethyleneglycolterephthalate)- poli (butyleneterephthalate) (PEGT/PBT) en la ingeniería tisular de piel ha sido reportado. Este andamio sintético tiene buenas propiedades mecánicas, y no tiene riesgo de transmisión de enfermedades. Sin embargo, la incorporación de colágena o fibrina poblada con fibroblastos dentro de los poros de estos andamios es necesaria para mejores resultados.

El andamio de ácido glicolicopoliláctico poroso también ha sido usado para construir un revestimiento de mucosa en una prótesis de mucosa con ingeniería tisular para remplazar defectos en la tráquea. Un andamio dérmico compuesto por una malla de tejido de ácido poliglicólico y poli caprolactona (PLGA-PCL) ha mostrado resultados superiores en términos de la distribución celular y la formación de tejido, comparado con los resultados de tres andamios naturales, incluyendo a la espuma de colágena equina, Alloderm™ y el quitosano<sup>14</sup>



### **6.5.8. Andamios híbridos**

La investigación ha desarrollado un sustituto de piel basado en un andamio semi-sintético realizado con benzilester de hialuronan. Este tiene buena biocompatibilidad *in vitro* e *in vivo*, así como una biodegradabilidad controlada. Un andamio híbrido de colágena poli (ácido láctico coglicérico) ha sido recientemente utilizado para la ingeniería tisular dérmica, pero esta ha mostrado una mayor contracción comparado con la esponja de ácido hialurónico.<sup>14</sup>

En un estudio reciente comparando los tres tipos diferentes de andamios dérmicos, una formación más eficiente de tejido conectivo fue observada con el uso de un andamio de un copolímero modelado con compresión y lixiviados con sal PEGT/PBT, en comparación con el reticulado de colágena liofilizada, y los andamios híbridos de colágena-PEGT/PBT. También se mostró que el espesor, porosidad, y la interconexión del tamaño de los poros eran parámetros importantes en la capacidad de los andamios sintéticos para controlar la formación de tejido conectivo.<sup>14</sup>

## **6.6. Andamios para tejidos duros**

El enfoque clásico de la ingeniería tisular en la regeneración orofacial en los últimos 30 años ha sido el uso de injertos óseos o sustitutos para reparar defectos periodontales y maxilofaciales.<sup>8</sup>

### **6.6.1. Autoinjertos**

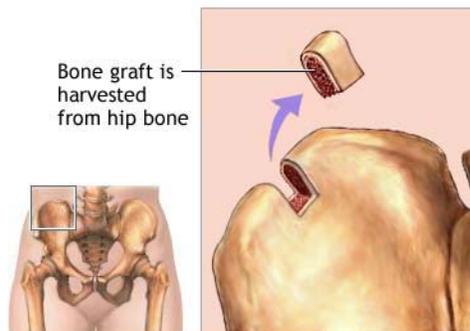
El hueso autólogo con sus propiedades osteogénicas, osteoconductoras y osteoinductivas ha sido considerado el material ideal para injerto en la cirugía reconstructiva ósea. Los injertos autógenos pueden incluir al

hueso cortical, esponjoso o cartico-esponjoso, el cual se puede obtener en una pieza, en bloque o en forma particulada.<sup>26</sup>

El manejo adecuado de este injerto puede permitir la supervivencia celular y la revitalización del injerto in situ, ya que la supervivencia de los osteocitos depende de la presencia de un suministro vascular dentro de una distancia de 0.1 mm, así que los injertos de hueso cortical con falta de reservas vasculares y celulares pueden no ser capaces de dar viabilidad celular. Los injertos de hueso esponjoso pueden ser de mejor apoyo para la supervivencia celular por la posibilidad de difusión de nutrientes y la revascularización.<sup>26</sup>

La regeneración de un injerto autólogo implica osteoconducción, a través de la que el nuevo hueso es formado gradualmente alrededor del injerto reabsorbido. Además, este es osteoconductor por lo que las proteínas liberadas son capaces de estimular osteoblastos y pre-osteoblastos para formar hueso nuevo.<sup>26</sup>

Los injertos óseos particulados son utilizados en cirugías de elevación de seno y en reconstrucciones mandibulares y maxilares. El hueso cultivado es obtenido de sitios intra-orales, así como de sitios extra-orales como es el caso de la cresta iliaca (Fig.12).<sup>26</sup>



**Figura 12. Obtención de injertos óseos provenientes de cresta iliaca.**<sup>27</sup>



Los injertos autólogos son considerados el estándar de oro por materiales predecibles y por ser materiales que tienen propiedades osteogénicas osteoinductivas y osteoconductoras. Sin embargo, sólo una cantidad limitada de hueso autógeno puede ser obtenida de sitios intraorales, los cuales pueden ser insuficientes para llenar completamente ciertos defectos.<sup>28</sup>

### **6.6.2. Aloinjertos**

Los aloinjertos consisten en tejido óseo que proviene de un donador de la misma especie y no contienen células viables. Los aloinjertos son incorporados al hueso existente por un proceso similar al de los injertos de hueso autógeno pero procede de una manera más lenta debido a la ausencia de células vivas. En experimentos con animales, los aloinjertos han mostrado que poseen proteínas óseas estimuladoras y gracias a estas propiedades osteoconductoras.<sup>8</sup>

Los aloinjertos están divididos a través de las siguientes categorías: hueso fresco congelado; aloinjertos óseos liofilizados (Fig. 13) y aloinjertos óseos liofilizados desmineralizados. Estos se describen en los siguientes puntos.



Figura 13. Aloinjerto óseo liofilizado.<sup>29</sup>

#### 6.6.2.1. Hueso fresco congelado

Los injertos de hueso fresco congelado son raramente utilizados en cirugía implantaria por el riesgo de rechazo inmunológico. Considerando esto, los donadores son sometidos a pruebas para identificación de infecciones, antes de utilizar su hueso para injertarlo en otro individuo. Además, los riesgos inmunológicos son minimizados congelando el hueso el cual frecuentemente es utilizado en mezclas con injertos autógenos o sustitutos óseos.<sup>8</sup>

#### 6.6.2.2. Aloinjertos óseos liofilizados y liofilizados desmineralizados

Desde mediados de los años setenta del siglo XX, los aloinjertos óseos mineralizados y desmineralizados liofilizados han sido el material de regeneración de elección. Estos son obtenidos de tejido óseo humano el cual es sometido a diversos tratamientos para poder ser utilizado posteriormente como material de injerto. Adicionalmente a su disponibilidad y su potencial osteogénico, los estudios clínicos indican que es posible un relleno óseo de dos a tres milímetros con el aloinjerto mineralizado, así como con el desmineralizado.<sup>8</sup>

### 6.6.3. Xenoinjertos

Los xenoinjertos consisten en hueso mineral proveniente de animales o de minerales parecidos al hueso derivado de corales o algas.<sup>26</sup>

#### 6.6.3.1. Hueso bovino inorgánico

El hueso bovino desproteínizado es el material de injerto más investigado y más usando en odontología por su similitud al hueso humano. Las proteínas en el hueso bovino desproteínizado han sido extraídas para evadir un rechazo inmunológico después de la implantación. Sin embargo, la desproteínización elimina la capacidad osteoinductiva por lo que este tipo de injertos sólo se consideran osteoconductivos.<sup>26</sup>

#### 6.6.3.2. Hidroxiapatita

Los xenoinjertos derivados de algas marinas carbonatadas, posteriormente transformadas en hidroxiapatita, han sido usados en la odontología e implantología por varios años. Probablemente, este material es no reabsorbible porque este no contiene proteínas y no es soluble (Fig. 14).<sup>26</sup>

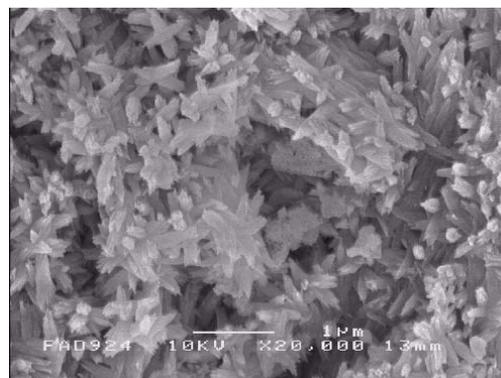


Figura 14. Injerto de hidroxiapatita.<sup>30</sup>



#### **6.6.4. Sustitutos óseos aloplásticos**

Los materiales aloplásticos han sido utilizados recientemente como sustitutos óseos. Estos son biológicamente aceptables, permiten el crecimiento óseo y la remodelación ósea mientras que mantienen el volumen. Adicionalmente los materiales aloplásticos tienen varias ventajas tales como el no necesitar un sitio donador, y que a través de su uso no existen transmisiones de enfermedades.<sup>31</sup>

Estos injertos consisten en cerámicas tales como la hidroxiapatita, la hidroxiapatita porosa, el fosfato tricálcico y polímeros de composite biocompatibles.<sup>8</sup>

##### **6.6.4.1. Fosfatos de calcio**

La similitud química del componente mineral del huso alveolar ha incrementado el empleo de los fosfatos de calcio, los cuales son materiales para sustituir hueso (Fig.15) y los cuales pueden ser empleados con diferentes formas y funcionalidades. La razón de su popularidad es que no son tóxicos, son biocompatibles y muestran un comportamiento bioactivo, lo que lleva a una unión fisicoquímica íntima al hueso. Adicionalmente, los fosfatos de calcio pueden ser reconocidos como osteoconductivos, y son capaces de proveer un andamio para la nueva formación de hueso, y para dar soporte a la adhesión y proliferación de fibroblastos.<sup>32</sup>



**Figura 15. Aplicación de fosfato de calcio en una lesión ósea vertical.**<sup>33</sup>

El fosfato tricálcico es usado en combinación con el factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinantes. El fosfato tricálcico ha demostrado tener biocompatibilidad y no se han reportado efectos adversos. Este material rellena físicamente los defectos óseos, brinda un andamiaje para la nueva formación ósea y previene que se colapse el tejido blando al sitio de la herida. Clínicamente, el fosfato tricálcico es osteoconductor, apoya la curación temprana y se reabsorbe a tasas variables dependiendo de su estructura química, porosidad y el tamaño de partícula.<sup>8</sup>

Un nuevo material inyectable a base de cemento, que consiste en dos diferentes compuestos de fosfato de calcio, ha sido desarrollado para la terapia de reparación ósea (Fig. 16). Este cemento de fosfato de calcio es inyectable, moldeable, de fácil colocación y bio-absorbible. Este cura *in vivo* para formar apatita carbonatada osteoinductiva, la cual es secuencialmente remplazada por hueso natural. El remplazo de este biomaterial por el hueso natural parece ser que ocurre en una manera similar a la remodelación ósea. El cemento de calcio actúa como un andamio estable para la formación de hueso y provee una curación histocompatible. Posteriormente, el cemento de calcio es remplazado por

hueso y cemento en la superficie de la raíz además de un nuevo tejido conectivo.<sup>33</sup>



Figura 16. Fosfato de calcio en presentación inyectable.<sup>33</sup>

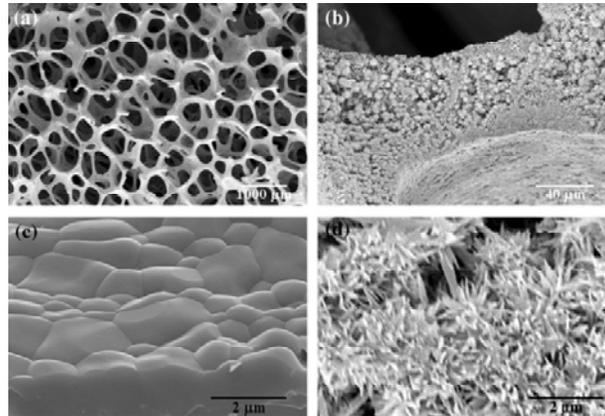
#### 6.6.4.2. Sulfato de calcio

El sulfato de calcio, uno de los injertos óseos más antiguos, es biocompatible, se degrada a cierto tiempo, y es remplazado subsecuentemente con hueso regenerado. Además, puede ser utilizado en un área infectada sin complicaciones, tiene propiedades de barrera, mejora la angiogénesis y puede ser un vehículo efectivo para antibióticos y para factores de crecimiento. Finalmente, hay que decir que otro beneficio del sulfato de calcio es que durante su disolución decrece el pH.<sup>8</sup>

#### 6.6.4.3. Hidroxiapatita

La cerámica de hidroxiapatita sintética fue desarrollada en los años setenta del siglo XX para las aplicaciones dentales. Este es un material que se puede unir directamente al hueso y presenta osteoconductividad. Por esta razón se han creado diferentes presentaciones, ya sea en bloques o particulado.<sup>33</sup>

La hidroxiapatita es una biocerámica que tiene propiedades osteoconductoras y que se adhiere estrechamente con el hueso. Este material es comúnmente utilizado en la ingeniería tisular en combinación con polímeros para mejorar sus propiedades mecánicas (Fig.17).<sup>34</sup>



**Figura 17. Andamios a base de hidroxiapatita y sus diferentes morfologías.**<sup>34</sup>

Entre los muchos biomateriales usados para fabricar andamios, el uso de la hidroxiapatita ha demostrado tener un desempeño para la reconstrucción ósea. La hidroxiapatita es comparable con la apatita natural proporcionando un buen entrelazamiento con el tejido huésped. La composición de la hidroxiapatita ha mostrado una variedad de propiedades útiles tales como la composición parecida al hueso, mínima inmunoreactividad, osteoconductividad, disponibilidad de calcio local y fósforo para las células circundantes.

Los andamios de este material han sido fabricados usando técnicas que le dan ventajas con el objetivo de investigar particularmente la identificación del tamaño de poro necesario para la infiltración tisular.<sup>35</sup>



### **6.6.5. Polímeros de vidrios bioactivos**

Los vidrios bioactivos fueron desarrollados por Hench cuando produjo un injerto óseo conocido como Bioglass45s5®. Desde entonces, estos materiales han podido solucionar diferentes problemas clínicos tales como los defectos óseos. El éxito de estos materiales se basa en su alta biocompatibilidad y sus efectos biológicos positivos después de su implantación. De hecho, estos biovidrios se unen e integran al hueso del cuerpo sin la formación de una cápsula fibrosa evitando así la inflamación y la toxicidad. Esta unión ósea es promovida por la formación de una capa de fosfato de calcio sobre la superficie del vidrio que evoluciona en apatita de hidrogenocarbonato cuando está en contacto con los fluidos fisiológicos. Hoy en día, la aplicación más prometedora de estos biovidrios en la ingeniería tisular es la asociación con agentes osteogénicos para formar andamios tridimensionales.<sup>32</sup>

### **6.6.6. Polímeros y colágenas**

Polímeros biodegradables como el ácido poliláctico y el ácido poliglicólico, así como la colágena, son materiales que se han reportado como candidatos en el campo de la ingeniería tisular, esto debido a sus buenas características de procesamiento, a su biodegradabilidad y su baja toxicidad hacia los tejidos. Hay que decir que, además de la biodegradabilidad, estos materiales inducen a la formación de hueso nuevo y la presencia de un factor osteogénico en los modelos animales.<sup>36</sup>

#### **6.6.6.1 Ácido poliláctico y ácido poliglicólico**

Estos andamios han sido utilizados para la ingeniería tisular de periostio para una nueva formación de hueso. Estos materiales son polímeros de poly (L-lactide-co-ε-caprolactona) (LCL), y el ácido poliglicólico (Fig. 18), el

ácido poliláctico se ha demostrado que es biocompatible, es seguro en humanos, y que se degrada más lentamente que el ácido poliglicólico (PGA). Nuevos andamios tipo película se han realizado de ese polímero que es ligero y transparente, una característica importante para la observación microscópica intermitente a lo largo de los periodos de cultivo. Sin embargo, este andamio tipo película es hidrofóbico, lo cual no resulta adecuado para el crecimiento y la adhesión celular. El revestimiento con colágena mejora substancialmente esta debilidad y además contribuye para el transporte fácil de las hojas periósticas del banco hacia el sitio de la implantación esto debido a que las funciones de la película son de acarreador de las hojas periósticas.<sup>37</sup>

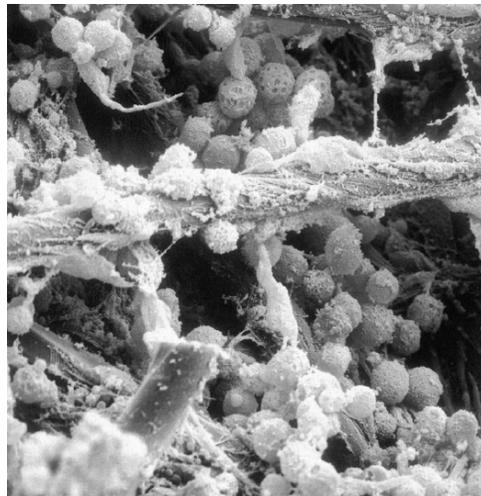
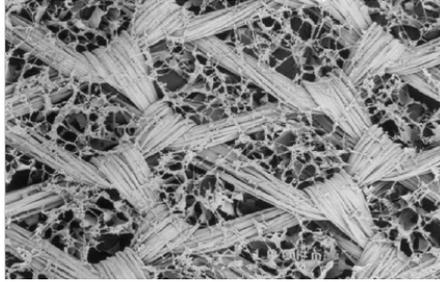


Figura 18. Andamio basado en fibras de ácido poliglicólico.<sup>37</sup>

#### 6.5.6.2. Colágena

La colágena, uno de los biomateriales derivados naturalmente, es la proteína estructural de los tejidos de soporte y de la remodelación en estrés físico y durante la curación de las heridas en los vertebrados. También juega un rol esencial dando un andamio biológico para las actividades celulares que influyen la adhesión, migración y diferenciación celular. La colágena ha sido extensamente usada para la

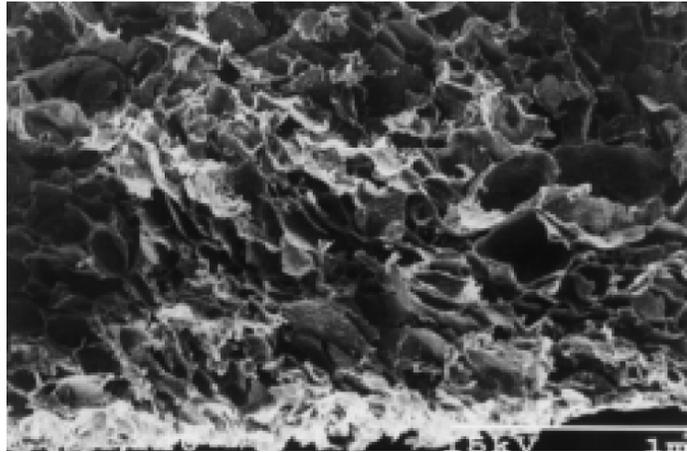
ingeniería tisular de los tejidos humanos y para aplicaciones médicas, incluyendo ingeniería ósea, y andamios tridimensionales para el cultivo de células madre, la incorporación de factores de crecimiento y de ingeniería genética (Fig. 19).<sup>38</sup>



**Figura 19. Malla de colágeno con ácido poliglicólico.**<sup>38</sup>

#### **6.6.7. Quitosano**

El quitosano es un derivado de la quitina (Fig. 20), que es el segundo polímero natural más abundante, éste se encuentra en los caparzones de los crustáceos y en las paredes de los hongos. Se ha mostrado que el quitosano promueve la curación de las heridas e induce a la formación ósea también tiene efectos inhibidores de microorganismos periodontopatógenos. El quitosano y sus modificaciones con hidroxiapatita han sido ampliamente investigados como un material para andamios para aplicaciones en la ingeniería tisular; a partir de esto, se ha mostrado que el quitosano y sus derivados son biodegradables, biocompatibles y moldeables y que tienen una composición química que ayuda a la adhesión celular. También se han obtenido resultados favorables en la aplicación del quitosano como biomaterial en la terapia periodontal. Los estudios sugieren la compatibilidad de la hidroxiapatita-quitosano con los fibroblastos del ligamento periodontal.<sup>39</sup>



**Figura 20. Esponja de quitosano**



## 7. CONCLUSIONES

En este trabajo se mostró la importancia de los andamios en la ingeniería tisular, y especialmente en el área de periodoncia. Además se mostró un panorama general sobre los andamios, cuáles son sus métodos de obtención y cuáles son las funciones que realizan en los tejidos en donde van a ser implantados; paralelamente, se dio a conocer la gran cantidad de andamios que existen para los diferentes tipos de tejidos en periodoncia y en qué casos estos pueden ser aplicados

Así, a lo largo de este trabajo, se brindó información científica actualizada sobre las características físicas de los andamios, los diferentes métodos de obtención, los diferentes materiales de los que están contruidos, sus diferentes aplicaciones, y su clasificación respecto al tejido periodontal al que van dirigidos. Además, se abordaron diferentes tipos de andamios propuestos por diferentes grupos de investigación, según la bibliografía consultada, y las variadas combinaciones de biomateriales que pueden realizarse para ayudar a generar mejores resultados en los tejidos de los pacientes. Todo esto, con el fin de contribuir al uso correcto de los andamios en la ingeniería tisular para que esta tenga resultados positivos.

Durante el proceso de investigación para elaborar esta tesina se hizo evidente la diversidad y amplitud de las fuentes información que se centran en la ingeniería tisular, y en los andamios.

Como ya se dijo, las fuentes de información que se encontraron fueron vastas; además, la información acerca de los andamios aplicados en los tejidos periodontales es compleja en tanto que los diferentes tipos de andamios tienen un alto grado de especialización.



Esta tesina, representa un acercamiento al tema, en donde, por la característica mencionada en el párrafo arriba, se reconoce la posibilidad e importancia científica de centrar la investigación sólo en un andamio, y con esto ofrecer información más detallada al respecto.

A partir de lo expuesto y analizado a lo largo de este trabajo, reconociendo la importancia de las tecnologías abordadas en la tesina y tomando en consideración el avance de la ciencia y la tecnología en este siglo, considero que la siguiente etapa de esta investigación serían los nuevos biomateriales, los cuales presentan mejores características en comparación con los existentes, así como combinaciones entre este tipo de materiales, los cuales permiten generar resultados óptimos, y sus posibles aplicaciones en la periodoncia.



## 8. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Vacanti Ch. 2006. "The History of Tissue Engineering." *J. Cell. Mol. Med.* 10 (3) (07/2006): 569-76.
2. Ma P, Elisseeff J. Scaffolding in Tissue Engineering, FI, United States: Taylor & Francis; 2006.
3. Lynch S, Marx R, Nevins M, Wisner-Lynch L. Tissue Engineering: Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics. 2a ed. Quintessence Books; 2008.
4. <http://ecm.ucsd.edu/Research.html>
5. Gartner L, Hiatt J. Texto Atlas de Histología. 2ª ed. Mc. Graw Hill; 2001.
6. Brown B. Constructive Tissue Remodeling Of Biologic Scaffolds: A Phenomenon Associated With Scaffold Characteristics And Distinctive Macrophage Phenotypes. Pittsburgh: University of Pittsburgh; 2010.
7. Lynch S, Marx R, Nevins M, Wisner-Lynch L. Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics. 1a ed. Quintessence Books; 1999
8. Kao RT, Murakami S, Beirne OR. The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. *Periodontology* 2000 2009;50:127-153.



9. Bartold, P. M., Xiao, Y., Lyngstaadas, S. P., Paine, M. L. and Snead, M. L. 2006. "Principles and Applications Ofcell Delivery Systems Forperiodontal Regeneration." *Periodontology 2000* Vol. 41:123–135.
10. Deboosere E. 'Tissue engineering' van de orale mucosa: analyse van 'engineering' technieken, toepassingsgebieden en hungerelateerdeklinische 'success rates'. 2010:1-64.
11. Abdel-Naser M.B., Abdallah M., Larangeira de Almeida H., Wollina U., Human Skin Cell Culture and its Impact on Dermatology. *Egyptian Dermatology Online Journal* 1 (2): 1, December 2005
12. <http://www.msm.cam.ac.uk/ccmm/research/vam27.html>
13. Hollister SJ. Porous scaffold design for tissue engineering. *Nature Materials* 2005 07/2005; 4:518-524.
14. Chan B, Leong K. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *Eur Spine J* 2008 13/11/2008;17(4):S467-S479.
15. Moharamzadeh K, Brook IM, Van Noort R, Scutt AM, Thornhill MH. Tissue-engineered Oral Mucosa: a Review of the Scientific Literature. *Journal of Dental Research* 2007 February;86(2):115-124.
16. <http://www3.imperial.ac.uk/biomedeng/facilities/rapid3dprototyping>
17. [http://www.nisenet.org/scientific-images/electrospun\\_scaffold](http://www.nisenet.org/scientific-images/electrospun_scaffold)
18. <http://www.biohorizons.com/Alloderm™.aspx>



19. Zhong S P, Zhang Y Z, Lim C T. Tissue scaffolds for skin wound healing and dermal reconstruction. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology* 2010 September/October;2:510-525.
20. Scarano A, Barros RR, Lezzi G, Piattelli A, Novaes AB Jr. 2009. "Acellular Dermal Matrix Graft for Gingival Augmentation: A Preliminary Clinical, Histologic, and Ultrastructural Evaluation." *J Periodontol* Volume 80 (Number 2):253-257.
21. Santos A, Goumenos G, and Pascual A. 2005. "Management of Gingival Recession by the use of an Acellular Dermal Graft Material: A 12-Case Series." *J Periodontol* Volume 76 (Number 11):1982-1987.
22. <http://www.durbidental.com/gumgrafting.html>
23. Nakamura T, Yoshitani M, Rigby H, Fullwood N, Ito W, Inatomi T, SotozonoCh, Nakamura T, Shimizu Y, and Kinoshita S. 2004. "Sterilized, Freeze-Dried Amniotic Membrane: A Useful Substrate for Ocular Surface Reconstruction." *IOVS* 45 (1) (01/2004):93-9.
24. Lotfi G, Shokrgozar M, Mofid R, Abbas F, Ghanavati F, Bagheban A, et al. A Clinical and Histologic Evaluation of Gingival Fibroblasts Seeding on a Chitosan-Based Scaffold and Its Effect on the Width of Keratinized Gingiva in Dogs. *J Periodontol* 2011 09/2011;82(9):1367-1375.
25. [http://www.nuigalway.ie/mechbio/research/nanoscale\\_tissue\\_eng.html](http://www.nuigalway.ie/mechbio/research/nanoscale_tissue_eng.html)



26. Hallman M. Bone substitutes and growth factors as an alternative complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontology* 2000 2008;47:172-192.
27. [http://drugster.info/img/ail/3501\\_3528\\_1.jpg](http://drugster.info/img/ail/3501_3528_1.jpg)
28. Vikender S, Yadav, Satish C. Narula, Rajinder K. Sharma, ShikhaTewari, RenuYadav. 2011. "Clinical Evaluation of Guided Tissue Regeneration Combined with Autogenous Bone Or Autogenous Bone mixed with Bioactive Glass in Intrabony Defects." *Journal of Oral Science* Vol. 53 (No. 4):481-488
29. <http://robertgougaloff.wordpress.com/2008/09/03/a-little-bit-on-bone-grafting/>
30. <http://www.clinicaleger.com.br/hidroxiapatita.htm>
31. Kim YK, Yun PY, Lim SC, Kim SG, Lee HJ, Ong JL.. 2007. "Clinical Evaluations of OSTEON® as a New Alloplastic Material in Sinus Bone Grafting and its Effect on Bone Healing." *Journal of Biomedical Materials Research Part B* DOI: 10.1002 (31015):270-275.
32. Vallet M, Ruiz E. Bioceramics: From Bone Regeneration to Cancer Nanomedicine. Review. *Advanced Materials* 2011;23:5177-5218.
33. Ricci JL TL. Where is dentistry in regenerative medicine? *International Dental Journal* 2011;61(1):2-10.
34. Appleford M, Oh S, Oh N, Ong J L. In vivo study on hydroxyapatite scaffolds with trabecular architecture for bone repair. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2008 13/05/2008:1019-1027.



35. Hou LT, Liu CM, Liu BY, Chang PC, Chen MH, Ho, MH, Jehng SM, Liu HC. 2007. "Tissue Engineering Bone Formation in Novel Recombinant Human Bone Morphogenic Protein 2–Atelocollagen Composite Scaffolds." *J Periodontol* Volume 78 (Number 2):335-339.
36. Kawase T, Yamanaka K, Suda Y, Kaneko T, Okuda K, Kogami H, Nakayama H, Nagata M, Wolff L, Yoshie H. Collagen-Coated Poly(L-lactide-coe-caprolactone) Film: A Promising Scaffold for Cultured Periosteal Sheets. *J Periodontol* 2010 11/2010;81 (11):1653-1662.
37. Akman A, Tıgılı S, Gümüşderelioğlu M, Nohutcu R. bFGF-loaded HA-chitosan: A promising scaffold for periodontal tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2009 16/03/2009:953-962.
38. Hollister SJ, Porous scaffold design for tissue engineering. *Nature materials*, vol. 4,1-3 (2005)
39. Brown B. Constructive Tissue Remodeling Of Biologic Scaffolds: A Phenomenon Associated With Scaffold Characteristics And Distinctive Macrophage Phenotypes. Pittsburgh: University of Pittsburgh; 2010.
40. Lee, Y. M., Park, Y. J., Lee, S. J., Ku, Y., Han, S. B., Choi, S. M. 2000. "Tissue Engineered Bone Formation using Chitosan/Tricalcium Phosphate Sponges." *J Periodontol* Vol. 71 Number 3:410-417.