



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Análisis del desarrollo de sustitutos de piel mediante ingeniería de tejidos

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Adriana Sayonara Barros Lozada

Tutor: PhD. Lorena de los Ángeles Núñez Villacis

Ambato- Ecuador

Marzo - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Lorena de los Ángeles Núñez Villacís

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Título y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 07 de febrero de 2022

PhD. Lorena de los Ángeles Núñez Villacís

C.I. 1804256905

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Barros Lozada Adriana Sayonara, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Adriana Sayonara Barros Lozada

C.I. 1805364005

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, de la Universas Técnica de Ambato.

Por constancia firma:

Dr. Lalaleo Córdova Liliana Paulina

Dr. López Hernández Orestes Darío
C.I.1754784864

Dr. García Solís Mario Daniel
C.I. 1103605471

Ambato, 09 de marzo de 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Adriana Barros', with a horizontal line drawn underneath it.

Adriana Sayonara Barros Lozada

C.I. 1805364005

AUTOR

DEDICATORIA

A mis padres John y Gladys con todo mi amor, regocijo y satisfacción les dedico uno de mis logros más importantes, como homenaje a su amor y apoyo que fue uno de los motivos para no rendirme. Así también, para mis ángeles que desde el cielo iluminan mi camino con la luz de cuidado y protección que siempre me brindaron para ustedes mi papá Tachi y mi tía Rosa. Todo esto es por y para ustedes mis seres amados.

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por darme vida, salud y guiar mis pasos a diario como también permitirme vivir la experiencia de la universidad y conocer la carrera que me apasiona. Gracias a mi madre Gladys que por sus palabras de aliento y amor no me rendí en cada dificultad que se me presentó en este proceso, a mi papá John, quien me ha dado ejemplo de fortaleza y perseverancia para mi vida. A mis hermanos gracias por su apoyo y cariño para conmigo. A mis primos Erika, Ronaldo, Jordi, Hayde y Rodrigo por la complicidad y sonrisas que siempre hemos compartido y han representado un alivio en momentos difíciles.

A mis amigas Nitzy, Karen y Dani con quienes he compartido experiencias maravillosas de aprendizaje tanto en el área de estudios como de la vida en general. Muchas gracias a mi querido y gran amigo Walter, quien ha estado presente en mi vida en los últimos tiempos de mi etapa universitaria brindándome su apoyo, conocimiento y sobre todo su cariño.

Gratitud a mi tutora de tesis la PhD. Lorena Nuñez por toda su sabiduría y paciencia conmigo, también por ser mi guía en este proceso.

Gracias a toda mi familia, amigos y personas especiales de mi vida por cada aporte personal o profesional que ha contribuido a formar el ser humano que soy en este momento. Gracias infinitas.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN EJECUTIVO	xi
ABSTRACT	xii
CAPITULO I.....	13
MARCO TEÓRICO	13
1.1. Antecedentes Investigativos	13
1.1.1. Generalidades de la piel	13
1.1.2. Estructura de la piel.....	14
1.1.3. Matrix extracelular de la piel	16
1.1.4. Regeneración natural de la piel.....	18
1.1.5. Lesiones en la piel.....	20
1.1.6. Quemaduras.....	20
1.1.7. Úlceras de la piel.....	22
1.1.8. Ingeniería de tejidos y Medicina Regenerativa.....	23
1.1.9. Tipos de sustitutos de piel a partir de Ingeniería de Tejidos.....	24
1.1.10. Materiales necesarios para Ingeniería de Tejidos de piel.....	26
1.2. Objetivos	30
1.2.1. Objetivo General	30
1.2.2. Objetivos Específicos.....	30
CAPÍTULO II	32
METODOLOGÍA	32
2.1. Materiales	32

2.1.1. Dispositivos electrónicos	32
2.1.2. Programas	32
2.1.3. Plataformas	32
2.2. Métodos	32
2.2.1. Importancia del desarrollo de sustitutos de piel a nivel de laboratorio	32
2.2.2. Tipos de células y biomateriales utilizados en el desarrollo de sustitutos de piel	32
2.2.3. Estudios preclínicos y clínicos de la aplicación de sustitutos de piel en el tratamiento de quemaduras y heridas.....	33
CAPÍTULO III	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1. Análisis de los resultados	34
3.1.1. Importancia del desarrollo de sustitutos de piel a nivel de laboratorio.	34
3.1.2. Tipos de células y biomateriales utilizados en el desarrollo de sustitutos de piel.	39
3.1.2.1. Sustitutos de piel epidérmicos	39
3.1.2.2. Sustitutos de piel dérmicos	45
3.1.2.3. Sustitutos de piel dermoepidérmicos	53
3.1.3. Estudios preclínicos y clínicos de la aplicación de sustitutos de piel en el tratamiento de quemaduras y heridas.....	58
3.2. Discusión de los resultados	67
CAPITULO IV	72
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	72
4.1. Conclusiones	72
4.2. Recomendaciones	74

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
---------------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Productos de sustitutos epidérmicos disponibles en el mercado.....	43
Tabla 2. Productos de sustitutos dérmicos disponibles en el mercado	49
Tabla 3. Productos de sustitutos dermoepidérmicos disponibles en el mercado	56
Tabla 4. Estudios Preclínicos y Clínicos de Sustitutos Epidérmicos	61
Tabla 5. Estudios Preclínicos y Clínicos de Sustitutos Dérmicos.....	62
Tabla 6. Estudios Preclínicos y Clínicos de Sustitutos Dermoepidérmicos.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la piel.....	15
Figura 2. Número de pacientes con lesiones cutáneas en Estados Unidos.	35
Figura 3. Tasas de mortalidad de pacientes hospitalizados a causa de quemaduras y úlceras en diferentes países.	36
Figura 4. Participación de sustitutos de piel en el mercado.	38
Figura 5. Proceso de elaboración de sustitutos de piel epidérmicos.	41
Figura 6. Productos disponibles de sustitutos epidérmicos.....	42
Figura 7. Proceso de elaboración de sustitutos de piel dérmico.	48
Figura 8. Productos disponibles de sustitutos dérmicos.	53
Figura 9. Proceso de elaboración de sustitutos de piel dermoepidérmicos.....	54
Figura 10. Productos disponibles de sustitutos dermo-epidérmico.....	58

RESUMEN

La cicatrización de heridas es una función importante de la piel, sin embargo, después de sufrir lesiones cutáneas extensas y profundas, este proceso puede desregularse o perderse. El propósito de esta investigación fue analizar los avances científicos en el desarrollo de sustitutos de piel mediante la aplicación de técnicas de Ingeniería de Tejidos hasta la actualidad. En la investigación realizada se determinó que los sustitutos de piel pueden clasificarse en sustitutos epidérmicos, dérmicos y dermoepidérmicos, dependiendo de la severidad de la herida que se vaya a tratar. En cuanto a los sustitutos epidérmicos se encontró que están constituidos por queratinocitos autólogos y superficies celulares. Los sustitutos dérmicos, en cambio, se conforman de fibroblastos dérmicos y andamios. Los dermoepidérmicos están compuestos por queratinocitos y fibroblastos dérmicos y también utilizan andamios. Respecto a las células que se emplean para los sustitutos dérmicos y dermoepidérmicos se determinó que estas pueden ser extraídas de fuentes autólogas, alogénicas y xenogénicas. Mediante un análisis exhaustivo se encontró que existe una gran variedad de productos de sustitutos de piel disponibles en el mercado. Sin embargo, para que los sustitutos puedan ingresar al mercado generalmente se suelen realizar estudios preclínicos y clínicos para demostrar la validez y eficacia de estos durante su uso. En conclusión, la ingeniería de tejidos es una tecnología basada en la creación de sustitutos de piel, los cuales no solo reducen la mortalidad, sino que también disminuyen morbilidad con el objetivo de mejorar la calidad de vida de pacientes con heridas agudas o crónicas.

Palabras Clave: Investigación bibliográfica, medicina regenerativa, ingeniería de tejidos, biología celular, sustitutos de piel, tejidos artificiales.

ABSTRACT

Wound healing is an important function of the skin, however, after suffering extensive and deep skin injuries, this process can be deregulated or lost. The purpose of this research was to analyze the scientific advances in the development of skin substitutes through the application of Tissue Engineering techniques to date. In the research conducted, it was determined that skin substitutes can be classified into epidermal, dermal and dermoepidermal substitutes, depending on the severity of the wound to be treated. As for epidermal substitutes, they were found to consist of autologous keratinocytes and cell surfaces. Dermal substitutes, on the other hand, are made up of dermal fibroblasts and scaffolds. Dermoepidermal substitutes are composed of dermal keratinocytes, fibroblasts and use scaffolds. Regarding the cells used for dermal and dermoepidermal substitutes, it was determined that these can be extracted from autologous, allogeneic, and xenogeneic sources. Through a thorough analysis it was found that there is a wide variety of skin substitute products available on the market. However, preclinical, and clinical studies are usually performed to demonstrate their validity and efficacy during use, for the substitutes to enter the market. In conclusion, tissue engineering is a technology based on the creation of skin substitutes, which not only reduce mortality, but also reduce morbidity with the aim of improving the quality of life of patients with acute or chronic wounds.

Keywords: Bibliographic research, regenerative medicine, tissue engineering, cell biology, skin substitutes, skin substitutes, artificial tissues.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Generalidades de la piel

El órgano más imprescindible para el ser humano es la piel debido a que actúa como una barrera protectora contra la entrada de patógenos, sustancias peligrosas y proporciona a su vez un escudo protector contra los efectos nocivos de la radiación ultravioleta emitida por el sol. Entre las múltiples funciones de la piel se encuentran: regular la temperatura corporal, mantener el equilibrio de agua y electrolitos, detectar estímulos agradables y dolores y participar en la síntesis de vitamina D (Yousef et al., 2021). El color de la piel está determinado por la melanina, esta se encuentra localizada en la base de la epidermis y es producida por los melanocitos. La melanina actúa como un protector ante los rayos ultravioleta del sol. Adicional a la melanina las diferencias de color de piel en las personas también están influenciado el clima. En climas tropicales la piel es de color oscura porque existe más exposición a los rayos ultravioleta y por ende el cuerpo produce más melanina y no sintetiza suficiente vitamina D. Las personas con piel más clara producen menos melanina y tiene mayor capacidad de síntesis de vitamina D (Deng & Xu, 2017).

La piel y sus complementos (uñas, cabello y glándulas) forman el órgano más grande del cuerpo con una superficie de $2m^2$. La piel comprende un 15 % del peso corporal total de un adulto y su grosor varia dependiendo de la zona; en la partes más delgadas como el caso de los parpados tienen solo 0,05 mm de grosor, mientras que en las partes más gruesas de la piel como las palmas de las manos y las plantas de los pies, su grosor es de 1,5 mm (Lawton, 2019).

1.1.2. Estructura de la piel

La piel contiene tres capas: epidermis, dermis y capa subcutánea, como se muestra en la Figura 1 (Lawton, 2019). La epidermis es una capa relativamente delgada, resistente y corresponde a la capa externa de la piel, es por ello que actúa como una barrera física y biológica para evitar la penetración de ciertas sustancias irritantes y alérgicas, además evita la pérdida de agua y mantiene la homeostasis interna (Abdo et al., 2020). Los tipos de células que se encuentran en la epidermis son los queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y las células de Merkel (Abdo et al., 2020). Se ha demostrado que los queratinocitos, componen la mayor parte de la epidermis, y que a la vez proliferan en el estrato basal. Estas son células productoras de queratina y tienen algunas funciones entre ellas: proteger contra la invasión microbiana, viral, fúngica y parasita, actúan como una barrera protectora contra la radiación ultravioleta, minimizan la pérdida de humedad, calor y otros componentes y son de gran ayuda durante el proceso de cicatrización de heridas (Abdo et al., 2020). Los queratinocitos forman las 4 capas de la epidermis que son: estrato córneo (de 20 a 30 capas de células), estrato granuloso (de 3 a 5 capas de células), estrato espinoso (de 8 a 10 capas de células) y estrato basal (consta de células cuboideas), sin embargo, este tipo de capas solo se encuentran en la piel delgada, en cambio en la piel más gruesa como los dedos, las palmas de las manos y las plantas de los pies, tienen las 4 capas de la epidermis más una capa extra que es el estrato lúcido (de 2-3 capas de células) (Abdo et al., 2020).

Los melanocitos se encuentran dispersos entre los queratinocitos a lo largo de la membrana basal y producen el pigmento melanina que es fabricado a partir de tirosina. La melanina contribuye en la pigmentación del cabello y la piel por ende también ayuda a proteger la piel contra la radiación ultravioleta (UV). La piel humana tiene alrededor de 1000 a 2000 melanocitos por milímetro cuadrado. Aunque cada persona posea un color de piel único, la cantidad de melanocitos es similar en todos los tipos de piel. (Abdo et al., 2020). Por otro lado, las células de Langerhans son células dendríticas que desempeñan un papel defensivo en la piel, en pocas palabras cuando ciertas sustancias extrañas invaden a la piel, las células de Langerhans responderán y se moverán a la

membrana basal, para dar instrucciones a otras células inmunes y así poder atacar al intruso (Abdo et al., 2020). Finalmente, las células de Merkel se localizan en la membrana basal y están asociadas con los filamentos terminales de los nervios cutáneos, es por ello que juegan un papel importante en la sensación del tacto, especialmente en las palmas de las manos, las plantas de los pies entre otros, adicionalmente transmiten información relacionada con el tacto, como la textura y la presión, al cerebro (Abdo et al., 2020).

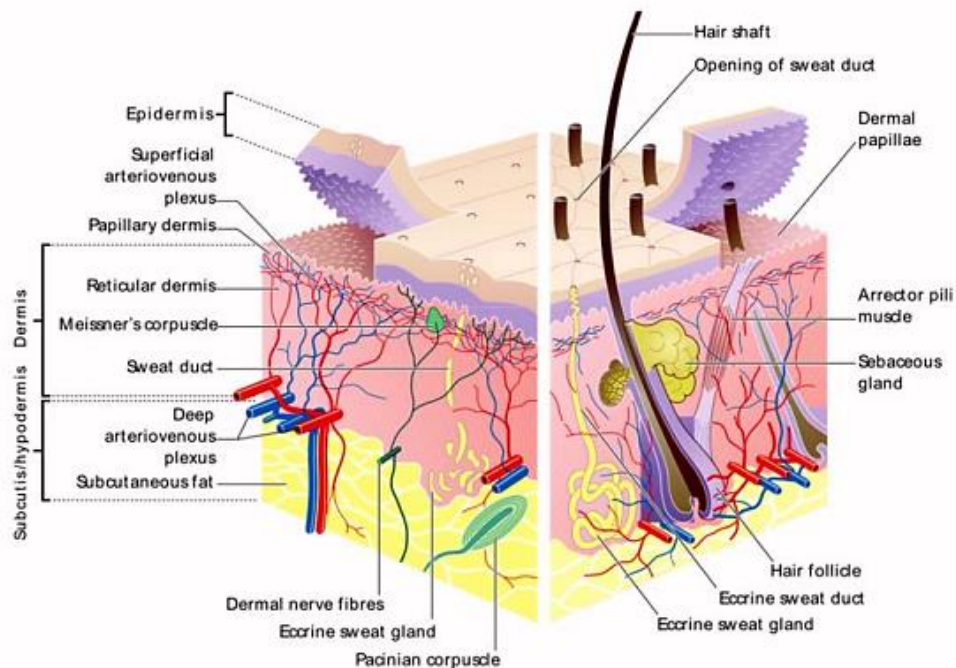


Figura 1. Anatomía de la piel. La piel contiene tres capas importantes que son: epidermis, dermis e hipodermis Fuente:(Lawton, 2019).

La segunda capa de la piel es la dermis la cual mide alrededor de 1-5 mm, asimismo se encuentra ubicada entre la zona de la membrana basal y la capa subcutánea. Está compuesta por una capa más superficial denominada dermis papilar y una capa profunda denominada dermis reticular. La dermis papilar, se encuentra profunda a la epidermis y está constituida por tejido conectivo laxo muy vascularizado, mientras que la capa reticular es gruesa, menos celular y consta de tejido conjuntivo denso de fibras de colágeno. Se puede decir también que la dermis alberga las vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas, folículos pilos y glándulas (A. Sharma et al., 2017). Las células principales de la dermis son los fibroblastos, sin embargo existen más tipos de células

que se encuentran dentro del tejido conectivo de la dermis como los macrófagos, los adipocitos, los mastocitos, las células de Schwann (**Brown & Krishnamurthy, 2021**). El papel de la dermis es sostener y dar soporte a la epidermis, ayudar en la termorregulación y la sensación, proporcionar nutrición a la epidermis y también ayuda a la cicatrización de heridas (**A. Sharma et al., 2017**). Finalmente, la última capa de la piel es la hipodermis también denominada capa subcutánea, está localizada debajo de la dermis y es la capa más profunda de la piel. Está constituida principalmente por tejidos adiposos junto con apéndices de la piel como los folículos pilosos, vasos sanguíneos y células nerviosas. La hipodermis produce células importantes como los adipocitos, que son los responsables de almacenar grasa en el cuerpo, de igual forma la grasa almacenada va ayudar a regular el tejido corporal y a proteger los órganos internos del cuerpo contra golpes y caídas y finalmente mantiene caliente al cuerpo del ser humano (**A. Sharma et al., 2017**).

1.1.3. Matrix extracelular de la piel

La dermis es un tejido conectivo cuyas propiedades mecánicas se originan en una extensa red de macromoléculas poliméricas denominada matriz extracelular (ECM), asimismo es una estructura extracelular que regula casi todas las funciones celulares, debido a que proporciona el soporte estructural a la piel y regula una amplia variedad de vías de señalización que gobiernan la proliferación celular y otros procesos relacionados con las condiciones normales (homeostasis y envejecimiento) y patológicas como la cicatrización de heridas y la metaplasia o la malignidad (**Pfisterer et al., 2021**). Por otra parte, la cantidad, la composición y la disposición de la ECM, va a depender del tipo de tejido considerado, por ejemplo, el tejido epitelial y tejido nervioso carecen o tienen muy poca matriz, en cambio en el tejido conectivo existe suficiente matriz extracelular (**Sparavigna, 2020**). Comúnmente, la ECM se compone principalmente de macromoléculas que son proteínas formadoras de fibras como el colágeno y la elastina, los proteoglicanos (PG), los glicosaminoglicanos (GAG) y las glucoproteínas; estas biomoléculas se localizan en un medio acuoso junto con otras moléculas de menor tamaño (**Kusindarta & Wihadmadyatami, 2018**). Las proteínas estructurales más abundantes en la ECM, son el colágeno y la elastina (**Chermnykh et al., 2018**).

El colágeno es una proteína fibrosa que constituye el 25 al 30% de todas las proteínas corporales y proporciona un soporte estructural al espacio extracelular de tejidos conectivos. Por su rigidez y resistencia, es la matriz perfecta para la piel, tendones y ligamentos. Se han descubierto que existen 28 tipos de colágeno, pero los colágenos de tipo I al V son los que más se encuentran en el cuerpo humano. La piel está constituida principalmente de colágeno I, III y V, siendo el de tipo I el más abundante. El colágeno se asocia con la elastina, la cual tiene la acción de estirarse en respuesta a las diferentes tensiones mecánicas y a la vez proporciona el retroceso de tejidos que se estiraron con el fin de poder recuperar su longitud inicial en reposo (**Mellody et al., 2016**).

Los proteoglicanos y los glucosaminoglicanos son otros constituyentes de la ECM y están íntimamente relacionados, debido a que los proteoglicanos son proteínas glicosiladas que tienen glicosaminoglicanos altamente aniónicos unidos covalentemente. La principal función biológica de los proteoglicanos se deriva de las características fisicoquímicas del componente glucosaminoglicano de la molécula, por lo que a partir de esto proporciona hidratación y resistencia a presiones mecánicas lo que le permite resistir las fuerzas de compresión (**Lozzo & Schaefer, 2016**). La parte proteica de los proteoglicanos se sintetiza en el retículo endoplasmático, en donde también va a iniciar la incorporación de glúcidos, sin embargo, la elongación de las cadenas de repeticiones de glucosaminoglicanos y la sulfatación se van a producir en el lado trans del aparato de Golgi. Actualmente se identifican seis tipos de glucosaminoglicanos que son: condroitín sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato, heparán sulfato, heparina y el ácido hialurónico; a excepción del ácido hialurónico todos los demás glucosaminoglicanos están sulfatados y unidos covalentemente a cadenas de aminoácidos. El ácido hialurónico no forma enlaces covalentes y no posee grupos fosfatos, pero a pesar de ello facilita la hidratación de los tejidos, debido a que tiene grandes radicales libres, que se van a ligar a las moléculas de agua (**Walimbe & Panitch, 2020**).

Finalmente, las glucoproteínas en la ECM son los intermediarios que unen a las moléculas estructurales entre sí y también unen las moléculas estructurales con otras células, de igual

manera en cada molécula de glicoproteína hay varios dominios que se unen a diferentes moléculas, que en conjunto forman redes moleculares reticuladas. Las principales glicoproteínas son las fibronectinas (responsables de la consistencia de la matriz celular), las lamininas (ayuda en la red de las láminas basales) y las tenascinas (cambian el estado de cohesión de la matriz extracelular al unirse a integrinas, colágenos y proteoglicanos) (Tucic et al., 2021).

1.1.4. Regeneración natural de la piel

El cuerpo humano posee un sistema complejo para la reparación de heridas en la piel. Se conoce que mientras más pequeña sea la herida más rápido se recuperará, en cambio, si la herida es grande o profunda se demorará más en sanar (Iftikhar, 2019). Las heridas se clasifican en agudas y crónicas, las agudas suelen ser ocasionadas por heridas quirúrgicas, heridas traumáticas o por quemaduras superficiales, además se caracterizan por mostrar una fisiología normal y en ciertos casos suelen recuperarse a través de las fases normales de la cicatrización. En cambio, las heridas crónicas ocurren por quemaduras profundas úlceras venenosas, arteriales o diabéticas, además la fisiología del tejido se ve afectada por lo que en ciertas ocasiones las heridas no se regeneran por completo o tardan años en recuperarse (Okur et al., 2020).

La cicatrización de heridas consta de cuatro fases continuas y programadas con precisión. Estas fases son: coagulación (dura de 5 a 10 min), inflamación (4- 6 días), proliferación (6-21 días) y maduración (21 días hasta 2 años) (Shpichk et al., 2019). La fase de coagulación actúa como un mecanismo de primera respuesta a la lesión, en esta fase, los vasos sanguíneos en el área de la herida se contraen para disminuir el sangrado en un proceso conocido como vasoconstricción, luego las plaquetas se adhieren, agregan y forman el tapón hemostático inicial, seguidamente se inician las cascadas de coagulación. Una enzima llamada trombina iniciará la formación de una malla de fibrina. Las plaquetas y la fibrina forman el coágulo, el cual va a sellar los vasos sanguíneos rotos y obstaculizará la pérdida de sangre. La fase inflamatoria, comienza tan pronto como la integridad del tejido se ve alterada por la lesión, en este caso las plaquetas son los primeros componentes

celulares que se agregan a la herida y como resultado de su reacción plaquetaria liberan varias citocinas y factores de crecimiento, por ejemplo, el factor de crecimiento similar a la insulina-1, el factor de crecimiento epidérmico y el factor de crecimiento de los fibroblastos **(Pereira & Bártolo, 2016)**. También se libera serotonina que junto con la histamina (liberada por los mastocitos), induce una apertura reversible de las uniones entre las células endoteliales, permitiendo el paso de neutrófilos y monocitos al área de la herida. Este gran movimiento celular hacia el área de la lesión es inducido por citocinas secretadas por las plaquetas (quimiotaxis) y por otras citocinas quimiotácticas que son secretadas por macrófagos. En consecuencia, un exudado inflamatorio que contiene glóbulos rojos, neutrófilos, macrófagos y proteínas plasmáticas incluidas las proteínas de la cascada de coagulación y las hebras de fibrina, llenan la herida en cuestión de horas **(Landen et al., 2016)**. Los neutrófilos permiten la fagocitosis de restos celulares y bacterias, lo que permite la descontaminación de la herida. Adicionalmente, la inflamación provoca hinchazón, calor, dolor y enrojecimiento en el área de la herida **(Shpichk et al., 2019)**.

La fase proliferativa es la tercera etapa de la cicatrización de heridas. Comienza cuando el coágulo que se encuentra en la parte exterior se seca formando una costra, los fibroblastos comienzan a migrar hacia la herida mediante la matriz provisional, luego de esto comienzan a proliferar y a producir colágeno, glucosaminoglicanos y otras moléculas de la matriz en un proceso denominado como fibroplasia (proceso de producción de colágeno y aumento de fuerza hacia la cicatriz) que esta a su vez da origen al tejido de granulación. Después, se produce la neovascularización mediante la angiogénesis, que desarrolla nuevos vasos sanguíneos a partir de los existentes, y la vasculogénesis, que es la formación de nuevos vasos a partir de células progenitoras endoteliales **(Pereira & Bártolo, 2016)**. En este caso la neovascularización del tejido nuevo garantizará el oxígeno y los nutrientes suficientes para los elementos celulares que puedan actuar y proliferar en zona de la herida. Por otra parte, la angiogénesis da origen a una red capilar, que está a la vez va a disminuir paulatinamente en el tejido de granulación a medida que se vaya sintetizando el colágeno y la herida se transforme a una cicatriz. En el proceso de cicatrización, la herida va a sufrir una contracción física que es facilitada por la deposición

continúa de fibroblastos y miofibroblastos. Al terminar esta fase proliferativa la herida se va encontrando menos inflamada y va a tener una fuerza constante (**Heather et al., 2021**).

Finalmente, en la fase de maduración o remodelación, comienza aproximadamente entre 21 días después de la lesión y puede continuar durante un año o más, todo dependerá de la profundidad de la herida. La costra se desprende de las fibras de colágeno y se vuelve más organizada incluso durante esta etapa ya se encuentran menos fibroblastos y los vasos sanguíneos se restauran a la normalidad, finalmente se forma el tejido cicatricial mediante un proceso llamado fibrosis. El tejido cicatricial se diferencia de la piel normal debido a que tiene una disposición más densa de fibras de colágeno y una reducción de elasticidad. Adicionalmente, en esta fase el colágeno III es remplazado por el colágeno I, el cual es menos elástico y más rígido ayudando así a reducir el grosor de la cicatriz y al fortalecimiento del área herida (**Heather et al., 2021**).

Existen varios factores que pueden interferir en cualquiera de las fases de cicatrización de heridas en la piel, causando así una reparación tisular inadecuada. Estos factores pueden ser la oxigenación, infección, edad, hormonas sexuales, estrés, nutrición, medicamentos, obesidad, diabetes entre otras (**Gushiken et al., 2021**).

1.1.5. Lesiones en la piel

Una de las características más importantes de la piel es que es dura, flexible y resistente, sin embargo, en ciertas ocasiones la piel suele lesionarse o incluso romperse. Las lesiones pueden ser ocasionadas por pequeños rasguños, cortes, ampollas, desgarres, raspaduras, contusiones, úlceras por presión y quemaduras (**Ojeda et al., 2020**). A continuación se describen características de lesiones causadas por quemaduras y úlceras.

1.1.6. Quemaduras

Las quemaduras pueden ser causadas por fricción, frío, calor, radiación, fuentes químicas o eléctricas, pero en la mayoría de los casos suelen ser provocadas por el calor de líquidos

calientes, sólidos o fuego. La gravedad de una quemadura depende de la profundidad (las capas de la piel que sufrieron daños por la quemadura), el ancho de la lesión (cuanta superficie corporal total cubre la herida) y la parte del cuerpo donde se ha producido. La profundidad de la lesión es un factor fundamental para poder evaluar las necesidades quirúrgicas, al momento que el paciente ingrese al hospital. En general, mientras más profunda sea la quemadura, mayor será la cantidad de capas dañadas (**Jeschke et al., 2020**). Las lesiones profundas sanan lentamente, son más difíciles de tratar y tienen más complicaciones que las superficiales. El ancho de la quemadura se expresa como porcentaje de la superficie corporal total (TBSA), como por ejemplo si es <10% de TBSA se considera un quemadura leve - moderada, en cambio sí es > 10% de TBSA se considera una quemadura grave. Las quemaduras en ciertas partes del cuerpo pueden considerarse extremadamente peligrosas independientemente del tamaño de la quemadura. Una quemadura en las manos, pies ,rostro y genitales se considera crítica (**Schaefer & Szymanski, 2021**).

Las quemaduras pueden ser de primer, segundo, tercer o cuarto grado según la profundidad y la gravedad con la que penetren en la superficie de la piel. Las quemaduras de primer grado (superficiales), afectan específicamente solo a la epidermis, mientras que el área de la quemadura suele ser de color rojo, doloroso, seco y sin ampollas. La causa más común de las quemaduras de primer grado es una quemadura térmica, que se produce al tocar un objeto de metal caliente o quemarse levemente durante algunos segundos. (**Schaefer & Szymanski, 2021**). De igual forma, las quemaduras de segundo grado (espesor parcial), afectan a la epidermis y parte de la dermis y el área de la quemadura es enrojecido, con ampollas y suele estar hinchado y doloroso. Las causas más comunes suelen ser los líquidos hirviendo, contacto con arcos eléctricos o superficies calientes, explosiones etc. Por otra parte, las quemaduras de tercer grado (espesor total), dañan la epidermis y la dermis de la piel, además pueden penetrar en la capa más interna de la piel que es el tejido subcutáneo. El área de la quemadura suele ser de color blanco, ennegrecido o carbonizado. Las causas más comunes suelen ser las mismas de las quemaduras de segundo grado. Finalmente, las quemaduras de cuarto grado pueden atravesar la epidermis, la dermis, los músculos, los huesos e incluso hasta las terminaciones nerviosas

y como tales, son extremadamente graves. Las personas que experimentan este tipo de quemaduras a veces no sienten dolor al principio porque las terminaciones nerviosas se destruyen o a su vez la persona puede encontrarse en estado de shock. **(Singer & Boycw, 2018)**.

1.1.7. Úlceras de la piel

Una úlcera es una herida abierta que se desarrolla en cualquier área de la piel, pero en la mayoría de los casos se presenta en la boca, caderas, glúteos y extremidades inferiores. Las úlceras comienzan lentamente y luego se agravan a medida que la piel se rompe y estas a su vez se convierten en heridas profundas que pueden extenderse a través del tejido muscular, dejando expuestos a los huesos y articulaciones **(Jaliman, 2021)**.

Los tipos de úlceras son causadas por diferentes factores subyacentes como: problemas de circulación sanguínea, lesiones y cáncer. Para empezar, las úlceras causadas por problemas de circulación sanguínea se dividen en: úlceras venenosas, que son aquellas que ocurren cuando la circulación en las piernas no funciona muy bien; úlceras arteriales, que ocurren cuando las arterias no pueden suministrar suficiente sangre rica en oxígeno a las extremidades inferiores. Por otro lado, las úlceras causadas por lesión o presión se dividen en: úlceras neuropáticas, estas lesiones ocurren porque hay un problema con la sensación en la piel; úlceras por presión, se dice que las áreas de la piel se dañan por una presión continua sobre ellas, generalmente debido a que una persona no puede moverse **(Janowska et al., 2019)**.

La piel tiene la capacidad de auto regenerarse después de haber sufrido una lesión, pero a veces puede ocurrir pérdida de piel extensa causada por quemaduras agudas o profundas, heridas crónicas, úlceras que no han cicatrizado y diabetes. Al no tener un proceso de cicatrización de piel adecuado puede provocar un estado crónico en la herida, lo que aumentaría el riesgo de la infección y en sí la vida del paciente **(Pereira & Bártolo, 2016)**. Las heridas que ya son crónicas son difíciles de cicatrizar es por ello que requieren tiempos de hospitalización más prolongados y el empleo de productos más sofisticados y costosos

para su cuidado. En la actualidad, el campo de la ingeniería de tejidos ha causado un gran impacto en la medicina moderna, debido a que mediante esta nueva técnica se está desarrollando diferentes tipos de sustitutos de piel que son hechos a base de biomateriales y células cutáneas epiteliales, todo esto con el fin de que pueda servir como un tratamiento para pacientes que hayan sufrido lesiones graves en la piel (**Pereira & Bártolo, 2016**).

1.1.8. Ingeniería de tejidos y Medicina Regenerativa

La ingeniería de tejidos comenzó desde el año 3 000 aC en la India, donde aparece el primer injerto de piel. En el año de 1907 el Dr. Harrison Ross estudió el desarrollo de las fibras nerviosas a partir del tejido embrionario, después en el año 1948 se fabricó el primer riñón artificial, luego en 1950 y 1960, su publicaron números artículos acerca de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa. En 1985 se patentó la tecnología de impresión 3D, tres años después publicaron acerca del posicionamiento de las células en 3D, en esta época la impresión 3D se utilizaba para imprimir el andamio y sembrar células en él. Después en el año 1995, la tecnología de impresión en 3D junto con la medicina regenerativa dieron lugar a nueva era de la impresión de órganos. En el 2003, se presentó la bioimpresora de inyección de tinta, es muy similar a la impresora de escritorio pero en el cartucho consiste de biotinta, Luego en el 2008, se dio la descelularización de órganos, mientras que en el año 2010 se realizaron más investigaciones sobre los métodos descelularizados y se demostró que cuando el órgano descelularizado se introducía en el cuerpo, crecía un 57%, seguidamente en el año 2015 se desarrolló tejidos blandos y finalmente en el año 2019 se desarrolló un nuevo proceso de estereolitografía para redes multi-vasculares (**Sidhu et al., 2020**).

En la actualidad, la ingeniería de tejidos ha ido evolucionando y ahora se ha convertido en un componente importante de la medicina regenerativa, que incorpora no solo el remplazo de células, tejidos u órganos, sino también la reparación y regeneración biológica (**Nerem, 2008**). Además, esta ingeniería puede regenerar nuevos tejidos mediante el uso de tres materiales claves que son, células, el andamio y factores de

crecimiento. Las células sintetizarán matrices de tejido nuevo, en cambio el andamio brindará un ambiente apropiado para que las células pueden cumplir sus funciones específicas y finalmente los factores de crecimiento ayudarán a promover que las células regeneren el tejido nuevo. Además de tener estos materiales claves, hay que tener en cuenta algunos factores que son críticos para la ingeniería de tejidos, como la fuente de células, el desarrollo del andamio, la siembra celular, el ambiente del cultivo, la preparación de la matriz y las características mecánicas de las células s (**P. Sharma et al., 2019**).

La ingeniería de tejidos es una tecnología moderna que ha servido como base para la creación de sustitutos de piel. Estos sustitutos no solo son capaces de reducir la mortalidad sino también de disminuir la morbilidad con el fin de mejorar la calidad de vida de personas que padecen lesiones graves y profundas en la piel (**Dearman et al., 2021**). En los últimos años ha existido un gran avance en el área de regeneración de la piel que es, la bioimpresión 3D, que trata de desarrollar con precisión construcciones de piel basadas en bio enlaces naturales o sintéticos, ya sea que estén cargados o no con células cutáneas nativas. Esta nueva alternativa se ha desarrollado como estrategia para contrarrestar la escasez de donantes de piel (**Fayyazbakhsh & Leu, 2020**).

1.1.9. Tipos de sustitutos de piel a partir de Ingeniería de Tejidos

Los sustitutos de piel son un grupo diverso de materiales biológicos, biosintéticos o sintéticos que pueden proporcionar una cobertura temporal o permanente para las heridas abiertas de la piel. El objetivo primordial de la ingeniería de tejidos de la piel, es fabricar un sustituto de piel complejo, sin cicatrices que se pueda trasplantar en grandes cantidades en un sola intervención quirúrgica y a la vez con una baja probabilidad de rechazo por parte del cuerpo humano (**Komal et al., 2017**). El desarrollo de sustitutos de piel ha sido de gran ayuda para el tratamiento de heridas agudas o crónicas, debido a que los sustitutos se adhieren rápidamente a la superficie de la herida, simulan las propiedades físicas y mecánicas de la piel, son fáciles de fijar y aplicar, se adaptan a las superficies irregulares

de las heridas, facilitan la angiogénesis, presentan durabilidad y estabilidad a largo plazo **(Gonzalez & Oualla, 2020)**.

Los sustitutos de piel se pueden clasificar en base a su estructura en epidérmicos, dérmicos y dermoepidérmicos. Estos pueden ser permanentes y temporales y suelen ser de origen autólogo, alogénico y xenogénico **(Tavakoli & Klar, 2021)**.

Los sustitutos epidérmicos son láminas de queratinocitos de la piel que crecen fuera del cuerpo y se utilizan para poder reemplazar la piel perdida por quemaduras, úlceras o cualquier tipo de lesión. Los queratinocitos se pueden cultivar de manera confiable y reproducible *in vitro*, sin embargo, uno de los inconvenientes de este método implica la transferencia de la lámina epidérmica del cultivo al lecho de herida, debido a que son frágiles y requieren un manejo cuidadoso **(Kim et al., 2016)**. Los sustitutos dérmicos son apósitos diseñados para acelerar la cicatrización de heridas agudas o crónicas. Actúan como matrices o andamios que promueven el crecimiento de los nuevos tejidos y mejoran la cicatrización de heridas. Los sustitutos dérmicos además mejoran los resultados funcionales y cosméticos a largo plazo. Sin embargo en la actualidad todavía no existe un sustituto dérmico ideal que imite por completo la morfología y las funciones de la piel **(Philips et al., 2020)**. Los sustitutos dermoepidérmicos son un medio terapéutico prometedor que ayuda a la cicatrización de heridas agudas y graves de la piel. Este tipo de sustitutos se componen de dos capas que incluyen componentes dérmicos y epidérmicos. La desventaja de este tipo de sustitutos es el alto costo **(Tavakoli & Klar, 2021)**.

Los sustitutos de piel permanentes cumplen la función de cerrar la herida de forma permanente, reemplazando los componentes de la piel y brindando un reemplazo de piel de mayor calidad. Los sustitutos temporales se utilizan como una cobertura de heridas a corto plazo, lo que significa que puede separarse de la herida en forma de costra una vez que la piel se haya regenerado y cicatrizado correctamente **(Philips et al., 2020)**. Además, los sustitutos de piel pueden ser de origen autólogo (células recolectadas del propio paciente), alogénico (células procedentes de otro individuo de la misma especie) y xenogénico

(células extraídas de una fuente animal) y se utilizan como tratamientos estándar para la cicatrización de heridas agudas y graves. Los sustitutos de origen autólogo tienen la ventaja de la ausencia del rechazo inmunológico, por otro lado, sustitutos alogénicos y xenogénicos son propensos al rechazo inmunológico, sin embargo, son una alternativa cuando no es posible la obtención de sustitutos autólogos (**Vig et al., 2017**).

1.1.10. Materiales necesarios para Ingeniería de Tejidos de piel

Entre los biomateriales más utilizados para el desarrollo de sustitutos dérmicos y dermoepidérmicos son los derivados de materiales naturales o sintéticos. Los biomateriales son compuestos adecuados para acelerar la cicatrización de heridas, debido a que proporcionan una permeabilidad adecuada al aire y al vapor de agua, brindan soporte para la migración y proliferación celular, protegen contra la invasión microbiana y la contaminación interna (**Negut et al., 2020**). Los andamios (soporte para células) son construidos a base de biomateriales y ayudan a la cicatrización de heridas mediante las siguientes funciones: proporcionan un soporte físico similar a la matriz extracelular, permite que las células interactúen y se conecten al facilitar la unión y migración celular, permite el flujo de los nutrientes celulares vitales, modifica el comportamiento de las células ejerciendo estímulos mecánicos y biológicos. Los métodos más comunes para la fabricación de andamios son: fundición de solventes/lixiviación de partículas, espuma de gas, separación de fases, moldeo por fusión, liofilización (**Dickinson & Gerech, 2016**) (**ZHAO et al., 2017**).

Los biomateriales de origen natural son materiales extraídos de plantas o animales para el desarrollo de andamios, además tienen la capacidad de soportar adecuadamente la adhesión, migración, proliferación y la diferenciación celular. Los biomateriales naturales pueden ser a base de proteínas y a base de polisacáridos. Los tipos biomateriales a base de proteínas son el colágeno, la fibrina y la seda. El colágeno es la proteína más abundante en el cuerpo proporciona fuerza y estabilidad estructural a los tejidos, incluidos la piel, los vasos sanguíneos, los tendones, los cartílagos y los huesos, asimismo tiene buena biocompatibilidad y características biodegradables. Los andamios de colágeno ayudan a

la adhesión y proliferación celular, además suministran principios biológicamente activos o antimicrobianos para contribuir en la cicatrización de heridas (**Shomita et al., 2021**). La fibrina, es un componente de la sangre involucrado en el proceso de coagulación y se forma por la interacción entre el fibrinógeno y la trombina, además muestra un gran potencial en la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas. El andamio de fibrina promueve la migración y la proliferación celular, la angiogénesis, la formación del tejido conectivo y la estimulación de factores de crecimiento (**Zorzella et al., 2020**). La seda es un biomaterial de proteína funcional producido por una variedad de insectos como moscas, gusanos de seda, escorpiones, arañas y ácaros, normalmente la seda sintetizada por gusanos de seda se estudia ampliamente por sus aplicaciones en la ingeniería de tejidos y la cicatrización de heridas. Los andamios de seda tiene la capacidad de apoyar la unión, proliferación y diferenciación de muchos tipos de células diferentes y también presentan buena biocompatibilidad (**T. Zhang et al., 2021**). Los tipos de biomateriales a base de polisacáridos son la agarosa, alginato, ácido hialurónico y el quitosano. La agarosa es un polisacárido vegetal natural que es utilizado en la ingeniería de tejidos debido a su alta resistencia mecánica, degradación controlable y la capacidad para mantener el fenotipo celular. Además, la agarosa ayuda a mejorar la estabilidad de agua en los andamios. Los andamios de agarosa presentan buena biocompatibilidad, seguridad y eficacia durante la cicatrización de heridas (**Negut et al., 2020**). El alginato se obtiene de las algas pardas y es utilizado en muchas aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad, baja toxicidad, su bajo costo y su gelificación suave mediante la adición de cationes divalentes como Ca^{2+} . Los andamios de alginato mantienen un microambiente fisiológicamente húmedo, minimizan la infección bacteriana en el sitio de la herida y también ayudan a la cicatrización de heridas (**Rekha & Biswal, 2021**). El ácido hialurónico se encuentra naturalmente en el cuerpo, es un glicosaminoglicano que no contiene enlaces de sulfato. Las características del ácido hialurónico incluyen su consistencia, biocompatibilidad, hidrofilia, inmunogenicidad limitada y viscoelasticidad única, lo que ha convertido que sea en un biomaterial potencial en la ingeniería de tejidos. Los andamios a base de ácido hialurónico son biodegradables, biocompatibles y bioabsorbibles, además no produce productos tóxicos y permite la adhesión y crecimiento celular (**Dovedytis & Bartlett, 2020**). El quitosano es derivado de la quitina extraído de fuentes naturales, como las

conchas de crustáceos, el exoesqueleto de insectos y hongos. El quitosano es material prometedor para aplicaciones biomédicas debido a sus propiedades antibacterianas, baja toxicidad, biodegradabilidad, biocompatibilidad y la capacidad de facilitar procesos regenerativos en la cicatrización. Los andamios a base de quitosano apoyan a la adhesión y proliferación celular se atribuye a sus propiedades químicas **(Rodríguez et al., 2015)**. Los materiales naturales tienen la ventaja de tener una baja toxicidad y una baja respuesta inflamatoria. Cuando se utilicen biomateriales para la fabricación de sustitutos deben ser biodegradables, reparables, no tóxicos, no inmunogénicos, no inflamatorios y deben presentar bajo riesgo de transmisión de enfermedades **(Savoji et al., 2018)**.

Los biomateriales sintéticos tienen propiedades constantes y estándar que pueden modificarse fácilmente durante su producción industrial. Los biomateriales sintéticos tienen mayor procesabilidad, mejores propiedades mecánicas y plasticidad diversa. La combinación de biomateriales naturales y sintéticos son un enfoque interesante para aplicaciones de regeneración de la piel. Los biomateriales poliméricos como el alcohol polivinílico son capaces de aumentar la estabilidad estructural y mejorar la proliferación celular inicial cuando se mezcla con colágeno **(Y. Zhang et al., 2020)**. Los biomateriales sintéticos pueden ser a base de ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL), Polietilenglicol, Poliuretano, Péptidos de autoensamblaje. El PLA es un polímero que se produce a partir de la policondensación del ácido láctico y la polimerización con apertura de anillo. La biocompatibilidad, biodegradabilidad y las propiedades mecánicas adecuadas del PLA ha sido de ayuda para la elaboración de excelentes andamios **(Santoro et al., 2016)**. El PCL es un poliéster lineal con buena biocompatibilidad, tasa de degradación lenta, biorreabsorbible con una elasticidad mecánica. El PCL es utilizado comúnmente para la fabricación de andamios 3D artificiales **(Shkarina et al., 2018)**. El polietilenglicol es un polímero soluble en agua y debido a sus propiedades no tóxicas, biodegradables y biocompatibles, el polietilenglicol se aplica para el desarrollo de andamios **(P. Liu et al., 2019)**. El Poliuretano es un polímero compuesto por unidades orgánicas que se encuentran unidas por enlaces de carbamato. Los andamios de poliuretano tienen buena biocompatibilidad, excelentes propiedades mecánicas, son biodegradables y de fácil procesamiento **(Weiwei et al., 2020)**. El autoensamblaje de

biomoléculas facilita la creación de nanoestructuras jerárquicas a partir de materiales poliméricos y no poliméricos. En la actualidad las nanoestructuras basadas en péptidos autoensamblados, como filamentos, fibrillas, hidrogeles, vesículas, sirven para la construcción de andamios. Los andamios construidos a base de péptidos autoensamblados ayudan a la propagación y proliferación celular, son biodegradables y biocompatibles **(Wang et al., 2017)**.

Las células que se pueden utilizar para el desarrollo de sustitutos de piel son variadas y entre ellas se encuentran los queratinocitos, fibroblastos dérmicos, melanocitos, células madre epidérmicas, células madre embrionarias, células madre pluripotentes inducidas y células madre mesenquimales **(Boyce & Lalley, 2018)**. Los queratinocitos son los responsables de restaurar la epidermis después de una lesión. Este tipo de células no solo ejercen funciones inmunitarias, sino que también tienen los mecanismos para restringir y reducir la inflamación, lo cual es importante durante el proceso de cicatrización de heridas. Estas características hacen que los queratinocitos sean un tratamiento ideal para quemaduras agudas y crónicas **(Than et al., 2019)**. Los fibroblastos dérmicos constituyen el principal tipo celular de la dermis, se han considerado células relativamente pasivas que son las responsables de la síntesis y remodelación de las proteínas de la matriz extracelular. Además, juegan un papel importante durante la cicatrización de heridas cutáneas y en la bioingeniería. La combinación de queratinocitos y fibroblastos dérmicos da lugar a la aparición de los denominados sustitutos de piel compuestos. Este tipo de sustitutos no solo brindan soporte estructural dermoepidérmico, sino que también aportan factores de crecimiento (derivados del factor de crecimiento epitelial (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)) que aumentan las tasas de recuperación y cicatrización de heridas **(Kisiel & Klar, 2019)**. Los melanocitos se encuentran en la capa inferior de la epidermis y proporcionan el pigmento que determina el color de la piel. Actualmente, los melanocitos se están incorporando en el desarrollo de sustitutos de piel dermoepidérmicos, debido a que son las únicas células capaces de proporcionar un color similar a la piel normal. Los sustitutos de piel a base de melanocitos tendrán la capacidad de proteger contra el daño del ADN inducido por la luz ultravioleta **(Supp et al., 2020)**. Las células madre

epidérmicas son una población de células madre somáticas adultas ubicadas específicamente en la capa de células basales de la epidermis. Además de su baja tendencia a dividirse, su capacidad de autorrenovación extensa y sostenida desempeña un papel esencial en la epidermogénesis y la reparación de heridas de la piel (**Morgun & Vorotelyak, 2020**). Las células madre embrionarias, son células madre pluripotentes, derivadas de la masa celular interna del blastocisto de un embrión, además estas células se distinguen por su capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de células y de autorrenovarse infinitivamente. Las células madre embrionarias tienen la habilidad de tener una expansión ilimitada *in vitro* y se pueden utilizar para realizar investigaciones de desarrollo, genéticas y farmacológicas (**Li et al., 2020**). Las células madre pluripotentes inducidas, son células adultas reprogramadas a un estado pluripotente, es decir, pueden diferenciarse en cualquier tipo de célula del organismo del que se derivaron, y son muy eficientes para mejorar la cicatrización de heridas (**Willerth et al., 2019**). Las células madre mesenquimales son células progenitoras adultas multipotentes no hematopoyéticas que se encuentran en diversos tejidos como la médula ósea, el tejido adiposo y el cordón umbilical. Su capacidad antiinflamatoria es útil para amortiguar el medio inflamatorio de heridas crónicas que no cicatrizan y también ayudan en el proceso de cicatrización de heridas (**Nourian et al., 2019**).

1.2.Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Analizar los avances científicos de la ingeniería de tejidos aplicada al desarrollo de sustitutos de piel.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Asociar la biología de la piel y la regeneración natural de heridas con la importancia del desarrollo de sustitutos de piel a nivel de laboratorio.

- Contrastar los diferentes tipos de células y biomateriales comúnmente utilizados en el desarrollo de sustitutos de piel.
- Comparar mediante tablas y gráficos estadísticos los resultados obtenidos de estudios preclínicos y clínicos de la aplicación de sustitutos de piel en el tratamiento de quemaduras y heridas.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales

2.1.1. Dispositivos electrónicos

- Computadora

2.1.2. Programas

- Mendeley

2.1.3. Plataformas

- Biblioteca Virtual de la Universidad Técnica de Ambato

2.2. Métodos

Para la búsqueda de la información se recurrió a bases de datos como ProQuest, Scopus, e-libro, Springer, ScienceDirect, PubMed, SciELO, incluyendo la Biblioteca Virtual de la Universidad Técnica de Ambato.

2.2.1. Importancia del desarrollo de sustitutos de piel a nivel de laboratorio

Se realizó la búsqueda de datos estadísticos de Estados Unidos, China y Ecuador sobre pacientes hospitalizados con casos de quemaduras o úlceras, luego se indagó acerca de la importancia del uso de sustitutos de piel en pacientes con heridas agudas y crónicas y finalmente se buscó los países que están fabricando sustitutos de piel.

2.2.2. Tipos de células y biomateriales utilizados en el desarrollo de sustitutos de piel

En primer lugar, se investigó que son los sustitutos de piel epidérmicos, dérmicos y dermoepidérmicos y también las células y los biomateriales que necesitan para su fabricación. Después se realizó una tabla como la que se muestra a continuación para los distintos productos de sustitutos de piel epidérmicos, dérmicos y dermoepidérmicos que se encuentran disponibles en el mercado.

Epidérmico											
Tipo de sustitutos	Nombre del Producto	Celular o Acelular	Componentes	Instrucciones	Tiempo de Reepitelización	% Epitelización	Vida útil/Almacenamiento	Compañía	Tamaño límite	Costo Bajo (\$ 250 a \$ 400) Alto (\$ 600 a \$ 10000)	Fuente

2.2.3. Estudios preclínicos y clínicos de la aplicación de sustitutos de piel en el tratamiento de quemaduras y heridas

De los productos de sustitutos de piel del apartado anterior, se comenzó a investigar si se habían realizado estudios preclínicos y clínicos de cada producto, por lo que se elaboró el siguiente modelo de Tabla para colocar la información correspondiente.

Sustitutos Epidérmicos						
Productos	Estudios Preclínicos	Resultados	Estudios clínicos	Resultados	Aprobación por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) o por Empresas	Fuente

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de los resultados

3.1.1. Importancia del desarrollo de sustitutos de piel a nivel de laboratorio.

Según el Centro de Control y Prevención de Enfermedades, cada año 1,1 millones de personas sufren lesiones por quemaduras en Estados Unidos (Figura 2). Aproximadamente 50 000 de estos requieren hospitalización; 20 000 sufren quemaduras agudas y aproximadamente 4500 personas mueren (**Chandan, 2021**). Existen alrededor de 6,5 millones de pacientes con heridas crónicas en todo el mundo y el costo médico general para el tratamiento supera los 25 mil millones de dólares estadounidenses por año (**X. Zhang et al., 2020**). En el año 2019, se publicó un artículo acerca de heridas humanas en un compendio actualizado de estimaciones, en el cual se detalló que las heridas crónicas usualmente se observan en poblaciones ancianas. En Estados Unidos, se calculó que el 3% de la población mayor a 65 años tenían heridas abiertas y se estimó que para el 2020 Estados Unidos superaría los 55 millones de personas ancianas con heridas crónicas, como por ejemplo, úlceras causadas por presión y diabetes (**Sen, 2019**). La incidencia de las úlceras por presión aumenta con el envejecimiento de la población y es causada por la falta de perfusión, humedad y nutrición de la piel. En Estados Unidos cerca de los 2.5 millones de personas desarrollan úlceras por presión anualmente como se muestra en la Figura 2. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades publicaron que, a partir del 2015, 30.3 millones de estadounidenses que corresponde al 9,4 % de la población de Estados Unidos viven con diabetes; además, 84.1 millones tienen prediabetes, se ha encontrado que la prevalencia de diabetes se ve aumentada con la edad (**Sen, 2019**).

Según la Organización Mundial de la Salud estima que 422 millones de personas viven con diabetes en todo el mundo y 1.5 millones de ellas mueren a causa de la enfermedad. Los países con más casos de diabetes son los de ingresos bajos y medios. Las heridas agudas y crónicas en las personas son uno de los principales factores que impulsan el crecimiento del mercado de sustitutos de piel. En Estados Unidos y Europa se encuentran los mercados de sustitutos de piel más grandes del mundo y estos a la vez poseen una demanda significativa de productos para el cuidado de heridas (**Schimd, 2015**).

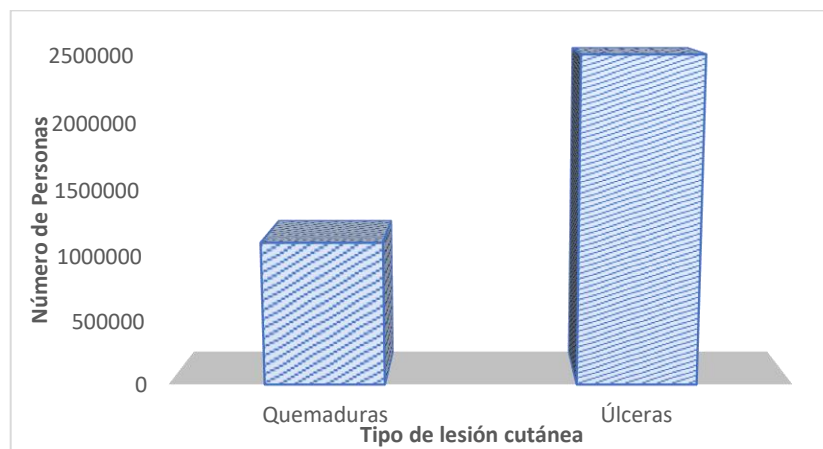


Figura 2. Número de pacientes con lesiones cutáneas en Estados Unidos. Existen alrededor de 1000000 pacientes con casos de quemaduras y 2500000 con úlceras cada año. Fuente: (**Chandan, 2021**) (**Sen, 2019**).

En China se realizó un análisis epidemiológico de 9779 pacientes con quemaduras. La información de los pacientes quemados, incluidas las muertes asociadas por quemaduras, se recopiló entre el año 2009 y 2016 del Instituto de Investigación de Quemaduras del Hospital Southwest en China. Los resultados del análisis fueron los siguientes; 68 pacientes fallecieron a causa de quemaduras que corresponde a una tasa de mortalidad del 0,7 %. El 95,54 % de los pacientes tenían un área de superficie corporal total de quemadura (TBSA) < 50 %, y la tasa de mortalidad aumentaba cuando el TBSA era mayor o igual al 50%. Las principales causas de las lesiones fueron por escaldaduras (41,60%), incendios (26,92%) y electricidad (15,29%) y la mayoría de las víctimas tenían 14 años o menos (**Zheng et al., 2019**). Los países en desarrollo tienen una tasa más alta de mortalidad que los países desarrollados. Por ejemplo, en año 2018 algunas estadísticas indican que las tasas de mortalidad de los pacientes hospitalizados a causa de quemaduras y úlceras

oscilan entre el 43,9 % en Irán, el 28,4% en Kuwait, el 33,5% en Turquía, el 27% en Sri Lanka, el 7,4 % en Arabia Saudí, el 16% en Afganistán, el 19,7 % en la India y 62% en Pakistán como se observa en la Figura 3. En los últimos años, la tasa de mortalidad de los pacientes quemados ha disminuido significativamente, debido a la participación de nuevas tecnologías de tratamientos de quemaduras como son los sustitutos de piel (**Albayrak et al., 2018**).

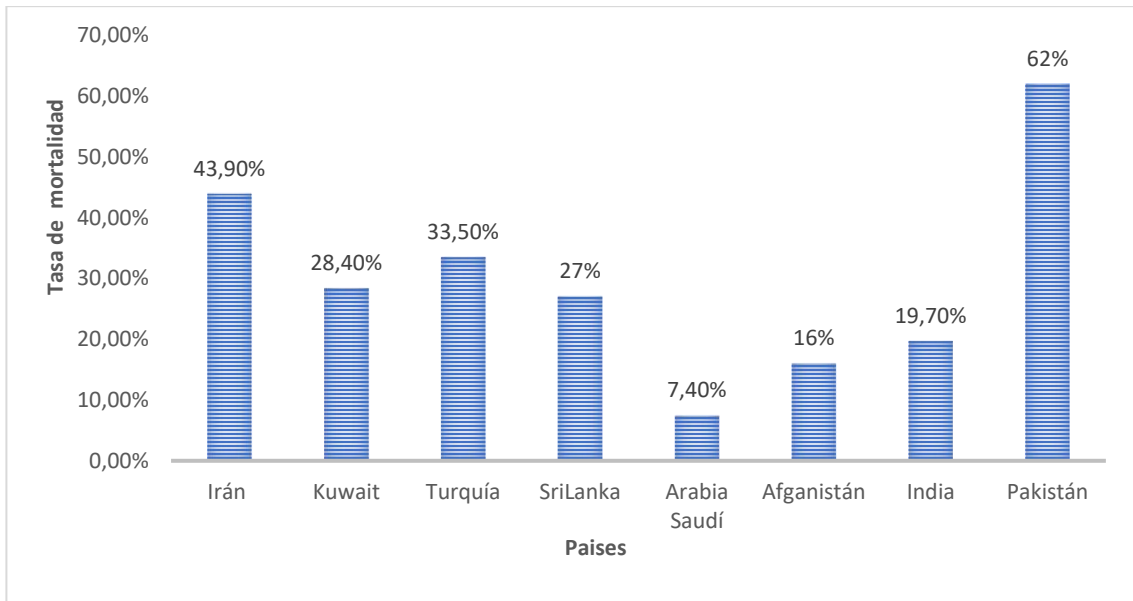


Figura 3. Tasas de mortalidad de pacientes hospitalizados a causa de quemaduras y úlceras en diferentes países. Son 8 países con una tasa de mortalidad que varía entre 7,4 % al 62 %. Fuente: (Albayrak et al., 2018).

En Ecuador se realizó un estudio acerca de la incidencia de quemaduras en pacientes ingresados a la unidad de quemados en el Hospital de Niños del Dr. Roberto Gilbert Elizalde ubicado en la ciudad de Guayaquil. El análisis del estudio fue entre el año 2014 al 2020 y detalló que los pacientes ingresados a la unidad de quemados fueron 1838; el número de quemaduras fue un 62 % mayor en niños que en niñas. Además, los pacientes menores de cinco años fueron los más afectados con un 57 %. El 75 % de los pacientes tuvieron sus lesiones de piel en el hogar y presentaban quemaduras de segundo grado con extensiones menores al 10 % de la superficie corporal quemada. El 31% de los niños tenían quemaduras en los miembros superiores del cuerpo humano. La mayoría de los

niños hospitalizados tenían quemaduras provocadas por escaldaduras (65%) o fuego (20%) (**Acosta et al., 2021**). Millones de niños en todo el mundo sufren quemaduras a causa de escaldaduras y fuego. Los factores más comunes que provocan las quemaduras son la edad, la supervisión del adulto en el hogar y el sitio donde se encuentre. Las lesiones por escaldaduras tienden a ser el tipo más común de lesiones en menores de 5 años y representan más del 65 % de los casos. Las lesiones por fuego son las comunes entre los niños mayores de 5 años y representan más del 56 % de los casos (**Yin, 2017**).

La aparición de los sustitutos de piel han sido de gran ayuda para la medicina regenerativa, ya que no solo ha logrado reducir la mortalidad sino también disminuir la morbilidad de un 10 - 15 %, con el fin de poder mejorar la calidad de vida de pacientes que hayan sufrido extensas lesiones de tejido, como quemaduras profundas y otras afecciones de pérdida de piel (**Dearman et al., 2021**). La tendencia del cuidado de la salud y el aumento de la prevalencia de heridas agudas y crónicas ha cambiado a un enfoque más integral que no solo se enfoca a la recuperación de la lesión causada por quemaduras o úlceras, sino también en la mejora de la lesión a largo plazo y así poder ofrecer una mejor vida para el paciente (**Zheng et al., 2019**). En el año 2016, se realizó una encuesta para evaluar las preferencias de los especialistas en quemaduras que utilizan sustitutos de piel y los resultados fueron los siguientes: ciento once especialistas de 36 países respondieron a la encuesta, exactamente 70 participantes fueron de Europa que representa al 54 %, 31 de América del norte (28%), 15 de Asia (14 %), tres en América del Sur (3%) y uno en África (1%) y uno en Australia (1%). La importancia de utilizar sustitutos de piel en quemaduras de tamaño mediano fue calificada por los encuestados como “esencial” con un 28% y “deseable” con un 56 %, mientras que con respecto a quemaduras graves el 81% de los que respondieron calificaron que el uso de sustitutos de piel es esencial y un 14 % que era deseable. Adicionalmente, un 86 % de los encuestados piensan que los sustitutos autólogos no suponen un riesgo para los pacientes, y además indicaron que si utilizan sustitutos alogénicos en un 51 % y xenogénicos un 28 % (**Pereira & Bártolo, 2016**).

La ingeniería de tejidos es una base fundamental para la fabricación de sustitutos de piel. Los sustitutos de piel son diseñados dependiendo su duración (temporal, permanente),

estructura anatómica (celular, acelular), biomaterial (autólogo, alogénico, xenogénico), aplicación (heridas crónicas, heridas agudas, quemaduras, úlceras de pie diabético), tipo de sustitutos (epidérmico, dérmico, dermoepidérmico). En la Figura 4, se observa que la mayoría de los sustitutos de piel son realizados en países de Norte América (Estados Unidos, Canadá, México), Europa (Alemania, Italia, Reino Unido, Francia, Países Bajos, Suiza), Asia-Pacífico (Japón, China, India, Corea del Sur, Australia, Tailandia, Indonesia, Filipinas), Sudamérica (Brasil, Argentina), Medio Oriente y África (Sudáfrica, Arabia Saudita, Egipto, Israel). Además, en la Figura 4, se puede observar cómo van a ir creciendo la participación de sustitutos de piel en el mercado desde el año 2020 al 2027. El tamaño del mercado de sustitutos de piel se valoró en USD 660 millones de dólares en el 2020 y se espera que crezca a una tasa de crecimiento anual compuesto de 14,40%. Se espera que el aumento de número de pacientes con heridas agudas, crónicas, quemaduras, úlceras en todo el mundo cree nuevas oportunidades para el mercado de sustitutos de piel (Uppal et al., 2020).

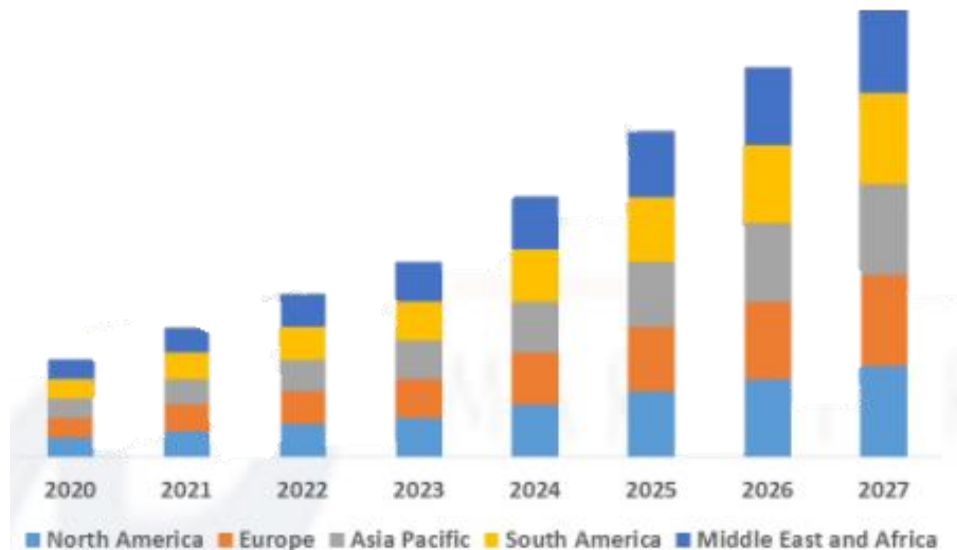


Figura 4. Participación de sustitutos de piel en el mercado. La fabricación de sustitutos de piel se da en varios países pertenecientes a Norte América, Europa, Asia-Pacífico, Sudamérica, Medio Oriente y África. Desde el año 2020 hasta el año 2027 existe un crecimiento exponencial en el mercado de sustitutos de piel. Fuente: (Uppal et al., 2020)

En base a lo investigado la incidencia de heridas agudas y crónicas a nivel mundial ha permitido el desarrollo de sustitutos de piel con el objetivo de poder cicatrizar las heridas rápidamente y mejorar la calidad de vida del paciente.

3.1.2. Tipos de células y biomateriales utilizados en el desarrollo de sustitutos de piel.

Los avances tecnológicos en la fabricación de biomateriales y el cultivo de células han permitido la producción de diferentes sustitutos de piel.

3.1.2.1. Sustitutos de piel epidérmicos

Los sustitutos epidérmicos son apósitos que brindan una cobertura temporal o permanente para las lesiones de piel. Estos sustitutos remplazarán la epidermis de la piel perdida. Los sustitutos epidérmicos representan una opción prometedora, rentable para el tratamiento de heridas graves que no cicatrizan, sin embargo sus principales desventajas son su largo tiempo de preparación, mala adherencia de los queratinocitos, difícil manejo, escasa estabilidad mecánica y sus altos costos de producción (**Kelangi et al., 2020**). Para su fabricación consiste en queratinocitos autólogos (células provenientes del mismo paciente) cultivadas sin componentes dérmicos. Los queratinocitos usualmente son extraídos mediante una biopsia de piel, sin embargo, también se pueden recolectar de folículos pilosos del cuero cabelludo como se muestra en los sustitutos recopilados en la Tabla 1. Los sustitutos epidérmicos no utilizan andamios para el crecimiento de células pero si necesitan una superficie que ayude al crecimiento celular. Algunos ejemplos de superficies son los fibroblastos (son calificados para brindar soporte a otro tipo de células), la gaza de petrolato, la silicona y las membranas microperforadas de ácido hialurónico como se muestra en los sustitutos recopilados en la Tabla 1. Las superficies a base de fibroblastos usualmente se ocupan para producir este tipo de sustitutos, debido a que son células que constantemente secretan colágeno y fibronectina que ayudan a la formación de la matriz extracelular. También tienen el factor de crecimiento de fibroblasto (FGF2) básico, que es un miembro de la familia de factores de crecimiento de fibroblastos. Este

factor cumple las funciones de adhesión, proliferación, migración celular de los queratinocitos, también ayuda en la cicatrización de heridas en la piel. (Murray et al., 2019).

Para elaborar un sustituto de piel a nivel de laboratorio, se requiere una biopsia de piel de 1 - 2 cm^2 . Tras la disección quirúrgica, el aislamiento de las células se debe realizar mediante digestión enzimática, el cual consiste en utilizar enzimas como la tripsina o colagenasa, con el fin de poder eliminar la matriz extracelular (Shaima et al., 2021). La digestión enzimática primeramente separará la dermis y epidermis y a partir de ello se podrán aislar los diferentes tipos de células como queratinocitos, melanocitos, fibroblastos dérmicos y células endoteliales vasculares (Haberzeth et al., 2016). Posteriormente, para este tipo de sustitutos de piel solo se utilizarán queratinocitos, que luego serán cultivados y expandidos *in vitro* sobre capas alimentadoras de fibroblastos a 37° C. Después de alcanzar el número requerido de células se inicia la formación de láminas epiteliales (células epiteliales que tienen forma de prisma y están empaquetadas en una lámina de monocapa extendida bidimensional), seguidamente estas van a ser recolectadas y están listas para ser trasplantadas en el paciente como se muestra en la Figura 5. Las láminas epiteliales suelen formarse a partir de los 18 días posteriores a la biopsia (Frese et al., 2021).

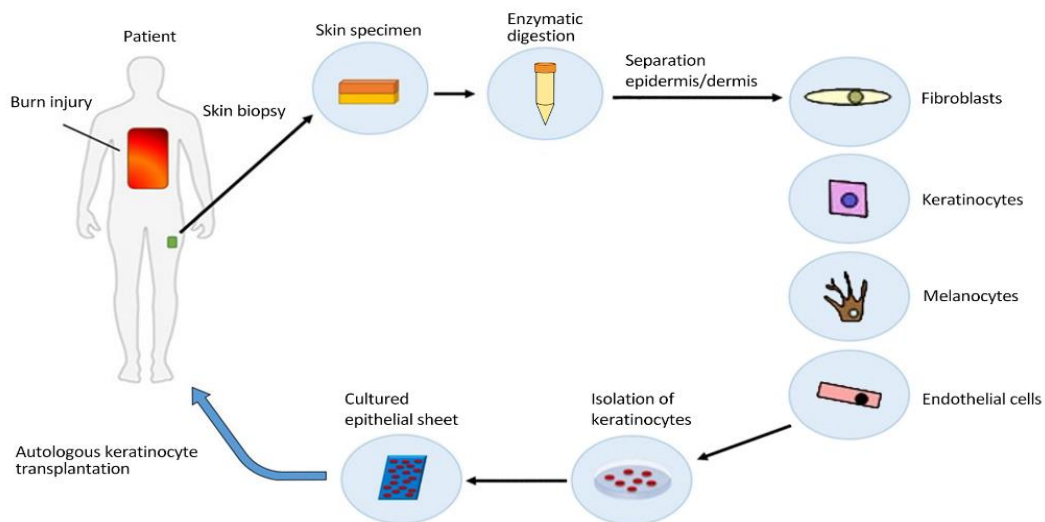


Figura 5. Proceso de elaboración de sustitutos de piel epidérmicos. Los pasos principales son: Biopsia, digestión enzimática, expansión y aislamiento de células, formación de laminas epiteliales. Fuente: **(Frese et al., 2021)**.

Se realizó una revisión de sustitutos epidérmicos disponibles en el mercado con sus respectivas características, como se muestra en la Tabla 1. Durante esta investigación se pudo destacar que los sustitutos de piel epidérmicos son en su mayoría de origen autólogo y entre ellos se encuentran: EpiDex tiene un tiempo de re-epitelización (es el tiempo que tarda el sustituto de piel en sanar la herida, después de que haya sido colocado en el paciente) de 28-42 días y un 90% de epitelización (porcentaje de cicatrización de la herida), Epicel® tiene un tiempo de re-epitelización de 16-21 días y un 85% de epitelización, EPIBASE tiene un tiempo de re-epitelización de 16- 30 días y un 80 % de epitelización, Epicel® tiene un tiempo de re-epitelización de 16-21 días y un 85% de epitelización, MySkin tiene un tiempo de re-epitelización de 14- 30 días y un 80% de epitelización, Bioseed-S tiene un tiempo de re-epitelización de 16 -25 días y un 85% de epitelización, CellSpray tiene un tiempo de re-epitelización de 15- 30 días y un 80% de epitelización, Lasserskin® or Vivoderm tiene un tiempo de re-epitelización de 18- 35 días y un 80% de epitelización como se muestra en la Tabla 1.

Los sustitutos epidérmicos que tuvieron un mayor porcentaje de epitelización son Epicel® y Bioseed-S con un 80%, además, sus tiempos de re-epitelización son cercanos, debido a que Epicel® es de 16-21 días y Bioseed-S es 16 -25 días como se observa en la Figura 6. Por otro lado, el porcentaje de epitelización del resto de sustitutos epidérmicos fue del 80%, en comparación con los sustitutos de mayor porcentaje la diferencia fue del 5%. Además, se puede mencionar que los sustitutos de piel permanentes son EpiDex, Epicel® y EPIBASE, mientras que Bioseed-S, Lasserskin®, CellSpray y MySkin son sustitutos temporales **(Kelangi et al., 2020)**.

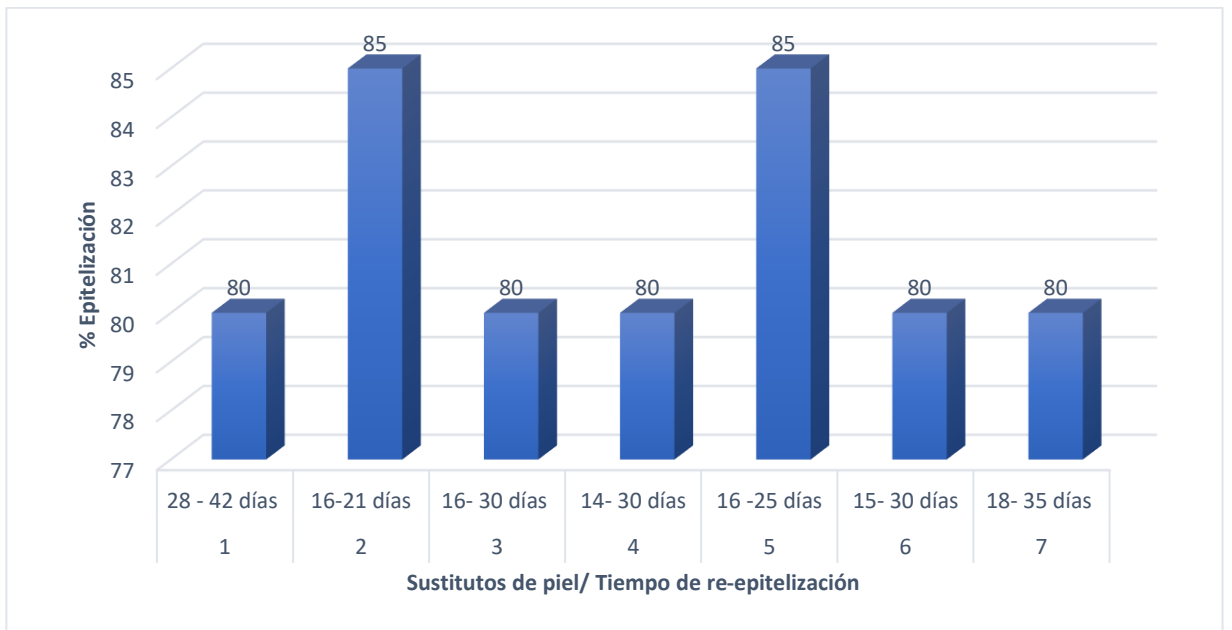


Figura 6. Productos disponibles de sustitutos epidérmicos. Sustitutos de piel de origen autólogo. 1.Epidex, 2. Epicel®, 3. EPIBASE, 4. MySkin, 5. Bioseed-S,6. CellSpray, 7. Lasserskin® or Vivoderm Fuente: **Elaboración Propia**

Tabla 1. Productos de sustitutos epidérmicos disponibles en el mercado

Epidérmico											
Tipo de sustitutos	Nombre del Producto	Celular o Acelular	Componentes	Instrucciones	Tiempo de Re epitelización	% Epiteli zación	Vida útil/Almace namiento	Compañía	Tam año límite	Costo Bajo (\$ 250 a \$ 400) Alto (\$ 600 a \$ 10000)	Fuente
AUTOL_ OGOS	1.EpiDex	celular	Queratinocitos cultivados de la vaina de la raíz externa de los folículos pilosos del cuero cabelludo	Heridas agudas y crónicas	28 - 42 días	80	Temperatura ambiente	Modex Therapeutiques, Lausanne, Switzerland	6 cm* 5cm	Bajo	(Savoji et al., 2018)
	2. Epicel®	celular	Láminas de queratinocitos autólogos adheridas a un soporte de gaza de petrolato	Heridas agudas y crónicas	16-21 días	85	Temperatura ambiente	Genzyme Biosurgery, USA	4 cm * 4 cm	Bajo	(Varkey et al., 2015)
	3. EPIBASE	celular	Queratinocitos cultivados	Heridas agudas y crónicas	16- 30 días	80	Temperatura ambiente	Laboratoires Genevrier, Antibes, France	4 cm *4 cm	Alto	(Vig et al., 2017)
	4. MySkin	celular	Queratinocitos cultivados; capa de soporte de	Heridas agudas y crónicas	14- 30 días	80	Temperatura ambiente	CellTran Ltd., UK	5 cm *6 cm	Alto	(Vig et al., 2017)

			silicona con un recubrimiento superficial especialmente formulado								
	5. Bioseed-S	celular	Queratinocitos cultivados	Heridas agudas y crónicas	16 -25 días	85	Temperatura ambiente (Komal et al., 2017)	BioTissue Technologies GmbH, Germany	5 cm* 4 cm	Alto	(Komal et al., 2017)
	6. CellSpray	celular	Queratinocitos cultivados	Heridas agudas y crónicas	15- 30 días	80	Temperatura ambiente	Clinical Cell Culture (C3), Australia	2 cm* 4 cm	Alto	(Komal et al., 2017)
	7. Lasserskin® or Vivoderm	celular	Queratinocitos y fibroblastos autólogos cultivados en membranas microperforadas de ácido hialurónico	Heridas agudas y crónicas	18- 35 días	80	Temperatura ambiente	Fidia Advanced Biopolymers Srl, Italy	3 cm * 4 cm	Alto	(Urciuolo et al., 2019)

Fuente: **Elaboración propia**

3.1.2.2. Sustitutos de piel dérmicos

Los sustitutos dérmicos son apósitos diseñados para acelerar la cicatrización de heridas agudas o crónicas, asimismo son biomatrices que cumplen funciones similares a la capa dérmica cutánea. Los sustitutos dérmicos son los más utilizados y estudiados, ya que son relativamente fáciles de producir en grandes cantidades a un bajo costo, fácil de almacenar y de manipular. Además, este tipo de sustitutos emergen estrategias de investigación fundamentales para la producción de andamios (**Shahrokhi et al., 2015**). Para su fabricación se utilizan los siguientes tipos de células: fibroblastos dérmicos (extraídos de una biopsia de piel), fibroblastos neonatales humanos autólogas o fibroblastos extraídos del prepucio neonatal como se muestra en la Tabla 2. Estos tipos de células pueden ser de origen autólogo (derivadas del mismo paciente), alogénico (originadas de un paciente con o sin parentesco familiar) y xenogénico (extraídas de una fuente animal). Para el crecimiento de este tipo de células se ocupa andamios, que cumplen la función de imitar a la matriz extracelular. Los andamios ayudarán a la adhesión, proliferación y diferenciación celular. (**Khaddour et al., 2021**). Los sustitutos dérmicos que se encuentran en la Tabla 2, utilizan diferentes andamios para su fabricación. Estos andamios están hechos por biomateriales como: poliglactina, colágeno bovino, colágeno porcino, ácido hialurónico, silicona, sulfato de condroitina, hidrolizado de alfa-elastina, dermis fetal bovina, glucosaminoglucano de condroitina-6-sulfato-de tiburón. También algunos sustitutos de piel están constituidos por una matriz dérmica humana liofilizada con membrana basal preservada como se muestra en la Tabla 2. El biomaterial utilizado para la fabricación de andamios debe ser evaluado clínicamente con el fin de que pueda ser un material ideal para la producción de sustitutos de piel (**Sheikholeslam & Jeschke, 2017**). Para la fabricación de andamios se utiliza comúnmente el método de solventes y lixiviación de partículas. El primer paso en este método consiste en disolver al polímero en cloroformo o cloruro de metileno en un recipiente, luego se agrega NaCl, seguidamente se debe mezclar la solución hasta tener una mezcla homogénea. Después, se vierte la mezcla homogénea en un molde de silicona en forma de disco donde se evaporará el solvente. Entonces, una vez que el solvente se evapore, se tiene una estructura sólida en

forma de disco conocida como andamio. El andamio resultante contiene el polímero y el NaCl. El NaCl se cristaliza y está presente en forma de cristales en las diferentes partes del andamio. El siguiente paso es lixiviar la sal, lo primero que se debe hacer es poner el andamio en agua desionizada durante 48 horas, esto disolverá la sal y se obtendrá un andamio constituido solo por el polímero. Después de la liofilización, el andamio es colocado en un desecador al vacío con el objetivo de poder eliminar el exceso de agua que se encuentra en el andamio. La porosidad del andamio se puede controlar mediante la cantidad de sal añadida, mientras que el tamaño de los poros depende de los cristales de la sal. Las estructuras porosas formadas por los cristales de sal son de gran ayuda para el cultivo de células (ZHAO et al., 2017).

Para elaborar un sustituto de piel dérmico a nivel de laboratorio, se requiere una biopsia de piel de 1 -2 cm^2 . Tras la disección quirúrgica, el aislamiento de las células se debe realizar mediante digestión enzimática, el cual consiste en utilizar enzimas como la tripsina o colagenasa, con el fin de poder eliminar la matriz extracelular. La digestión enzimática, primeramente, separará la dermis y epidermis, a partir de ello se podrá aislar los diferentes tipos de células como queratinocitos, melanocitos, fibroblastos dérmicos y células endoteliales vasculares. Para el desarrollo de este tipo de sustituto de piel, solo se requiere cultivar y expandir fibroblastos dérmicos *in vitro* sobre la estructura de un andamio biocompatible en presencia de nutrientes que permitirán la formación del sustituto de piel como se muestra en la Figura 7. Finalmente se comprueba la viabilidad celular y se obtiene el sustituto (Mathew et al., 2016).

Hasta la actualidad se ha hecho una revisión de sustitutos dérmicos disponibles en el mercado con sus respectivas características, como se muestra en la Tabla 2. Durante esta investigación se pudo destacar que este tipo de sustitutos pueden ser de origen: autólogo, alogénico y xenogénico. Los sustitutos de origen autólogo son: Pelnac Standard tiene un tiempo de re-epitelización de 14-28 días y un 90 % de epitelización, Hyalomatrix PA tiene un tiempo de re-epitelización de 14-24 días y un 90 % de epitelización. En cambio, los sustitutos de origen alogénico son: GraftJacketNow™ tiene un tiempo de re-epitelización de 14-16 días y un 90 % de epitelización, AllomaxSurgicalGraft tiene un tiempo de re-

epitelización de 14-16 días y un 90 % de epitelización, Allodermo® tiene un tiempo de re-epitelización de 21-28 días y un 90% de epitelización, SureDerm tiene un tiempo de re-epitelización de 21-28 días y un 90% de epitelización, Allopatch® tiene un tiempo de re-epitelización de 14- 40 días y un 86 % de epitelización, Dermagraft® tiene un tiempo de re-epitelización de 42 -84 días y un 98,4 % de epitelización, Apligraf® tiene un tiempo de re-epitelización de 84 días y un 95 % de epitelización, Biobrane® tiene un tiempo de re-epitelización de 11 -20 días y un 90 % de epitelización, TransCyte® tiene un tiempo de re-epitelización de 11-20 días y un 90 % de epitelización, Terudermis tiempo de re-epitelización de 14-21 días y un 90 % de epitelización. Finalmente, los sustitutos de origen xenogénico son: Oasis® tiene un tiempo de re-epitelización de 28-56 días y un 84,6 % de epitelización, Integra® tiene un tiempo de re-epitelización de 14-21 días y un 88 % de epitelización, Matriderm® tiene un tiempo de re-epitelización de 14-21 días y un 88 % de epitelización, Primatrix™ Dermal Repair Scaffold tiene un tiempo de re-epitelización de 7-28 días y un 87 % de epitelización, Strattice™ Reconstructive Tissue Matrix tiene un tiempo de re-epitelización de 28-40 días y un 87 % de epitelización.

Los sustitutos dérmicos que poseen mayor porcentaje de epitelización son Dermagraft® y Apligraf®, con un 98.4 % y 95 % respectivamente como se muestra en la Figura 8, estos porcentajes comparados con los demás substitutos dérmicos tienen una diferencia entre el 13,8 % y el 8,4 %. Todos los sustitutos dérmicos que se muestran en la Figura 8, tienen un considerable porcentaje de epitelización que va desde el 84,6 % hasta 98.4 %, lo que significa que son productos estables para la cicatrización de heridas. Además, dentro de los productos de substitutos temporales se encuentran: Allodermo®, SureDerm, Pelnac Standard, Oasis®, Terudermis, Matriderm®, Integra®, Hyalomatrix, Dermagraf, GraftJacketNow™ y Biobrane®, mientras que los substitutos permanentes son: TransCyte®, Apligraf®, AllomaxSurgicalGraft, Allopatch®, Strattice™ Reconstructive Tissue Matrix, y Primatrix™ Dermal Repair Scaffold (Kelangi et al., 2020).

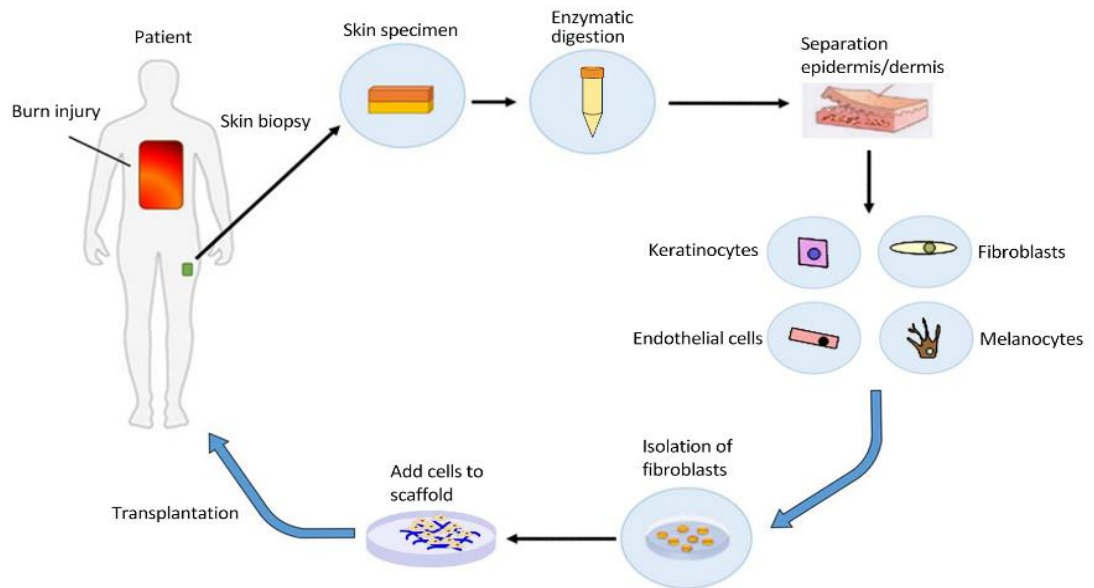


Figura 7. Proceso de elaboración de sustitutos de piel dérmico. Los pasos principales son: Biopsia, digestión enzimática, expansión y aislamiento de células, cultivo de células en el andamio Fuente: (Mathew et al., 2016).

Tabla 2. Productos de sustitutos dérmicos disponibles en el mercado

Dérmico											
Tipo de sustitutos	Nombre del Producto	Celular o Acelular	Componentes	Instrucciones	Tiempo de Re epitelización	% Epitelización	Vida útil/Almacenamiento	Compañía	Tamaño límite	Costo Bajo (\$ 250 a \$ 400) Alto (\$ 600 a \$ 10000)	Fuente
AUTOLÓGOS	8. Pelnac Standard	acelular	Consta de un componente dérmico poroso hecho de colágeno bovino y glucosaminoglucano de condroitina-6-sulfato-de tiburón	Heridas agudas	14-28 días	90	Temperatura ambiente	Gunxe Ltd, Japan	6 cm *4cm	Bajo	(Vig et al., 2017)
	9. Hyalomatrix PA	acelular	Fibroblastos dérmicos sembrados en un andamio de ácido hialurónico.	Heridas de espesor parcial y total	14-24 días	90	4 años; Temperatura ambiente	Anika Therapeutics Bedford, MA, EE.UU	10 cm * 20 cm	Bajo	(Kozuko et al., 2020)

ALOGÉNICOS	10. GraftJacketNow™	acelular	Matriz dérmica humana liofilizada con membrana basal preservada	Heridas agudas	14-16 días	90	2 años; Refrigerar	Wright Medical Technology, Inc.	4 cm *8 cm	Alto	(Dhasmana et al., 2018)
	11. AllomaxSurgicalGraft	acelular	Matriz dérmica humana liofilizada con membrana basal preservada	Heridas agudas y crónicas	14-16 días	90	Temperatura ambiente	Davol Ind/Bard	16 cm * 20 cm	Alto	(Vig et al., 2017)
	12. Allodermo®	acelular	Matriz dérmica humana liofilizada con membrana basal preservada	Heridas agudas	21-28 días	90	2 años; Refrigerar	LifeCell Inc, Branchburg, NJ, USA	2 cm * 4 cm	Alto	(Dhasmana et al., 2018)
	13. SureDerm	acelular	Matriz dérmica humana liofilizada con membrana basal preservada	Heridas crónicas	21-28 días	90	2 años; Refrigerar	Hans Biomed; Corporation, Daejeon, Korea	2 cm * 4 cm	Alto	(Agilinko et al., 2021)
	14. Allopatch®	acelular	Es un tejido dérmico reticular humano procesado asépticamente	Heridas agudas y crónicas	14- 40 días	86	2 años; Temperatura ambiente	MTF Biologics Wound Care	4 cm *8 cm	Alto	(Dhasmana et al., 2018)
	15. Dermagraft®	celular	Fibroblastos neonatales humanos sembrados en un andamio de poliglactina	Tratamiento para las úlceras del pie diabético	42 -84 días	98,4	Refrigeración	Advanced BioHealing, Inc., USA	5 cm *7,5 cm	Alto	(Przekora, 2020)

16. Apligraf®	celular	Fibroblastos extraídos del prepucio neonatal sembrados en un andamio de colágeno bovino	Heridas agudas y crónicas	84 días	95	Refrigeración	Organogenesis Inc.	5cm* 5 cm	Alto	(Eudy et al., 2021)
17. Biobrane®	acelular	Consiste en una película de silicona semipermeable con colágeno porcino	Heridas crónicas	11 -20 días	90	Refrigeración	Mylan Bertek Pharmaceuticals, USA	5 cm * 5 cm	Bajo	(Wei et al., 2021)
18. TransCyte®	celular	Película de silicona semipermeable adherida a una tela de nailon con colágeno porcino alogénicos de prepucio humano neonatal	Heridas agudas y crónicas	11-20 días	90	1,5 años; Refrigeración	Organogenesis Inc.	5 cm *5cm	Bajo	(Vyas & Vasconez, 2014)
19. Terudermis	acelular	Fibroblastos cultivados en una capa de colágeno y silicona	Heridas agudas	14-21 días	90	Refrigeración	Biomaterial Olympus Terumo, Japan	10 cm*10 cm	Alto	(Dhasmana et al., 2018)

XENO_G ÉNICOS	20. Oasis®	acelular	Submucosa de intestino delgado liofilizado acelular porcino-no reticulada	Heridas agudas y crónicas	28-56 días	84,6	2 años; Temperatura ambiente	Cook Biotech INC., West Lafayette, IN, USA	7 cm *20 cm	Bajo	(Nobuyama et al., 2019)
	21. Integra®	acelular	Colágeno acelular bovino tipo I y sulfato de condroitina recubierto con un elastómero fino de silicona-reticulado	Heridas agudas y crónicas	14- 21 días	88	2 años; Temperatura ambiente	Integra LifeSciences Corp., USA	8 cm *10 cm	Bajo	(Tavakoli & Klar, 2021)
	22. Matriderm®	acelular	Dermis liofilizada bovina cubierta con hidrolizado de alfa-elastina	Heridas agudas y crónicas	14-24 días	90	5 años; Temperatura ambiente	Dr Suwwlack Skin and Health Care AG; Germany	8 cm *20 cm	Alto	(Mestrallet, 2021)
	23. Primatrix™Dermal Repair Scaffold	acelular	Matriz dérmica acelular, derivada de la dermis fetal bovina	Heridas graves	7-28 días	90	3 años; Temperatura ambiente	TEI Biosciences	6 cm *6 cm	Bajo	(Agostinis et al., 2021)
	24. Strattice™ Reconstructive Tissue Matrix	acelular	Dermis porcina	Heridas agudas y graves	28-40 días	90	Temperatura ambiente	LifeCell Inc, Branchburg, NJ, USA	20 cm *30 cm	Alto	(Puttergill & Ngutshane, 2018)

Fuente: **Elaboración propia**

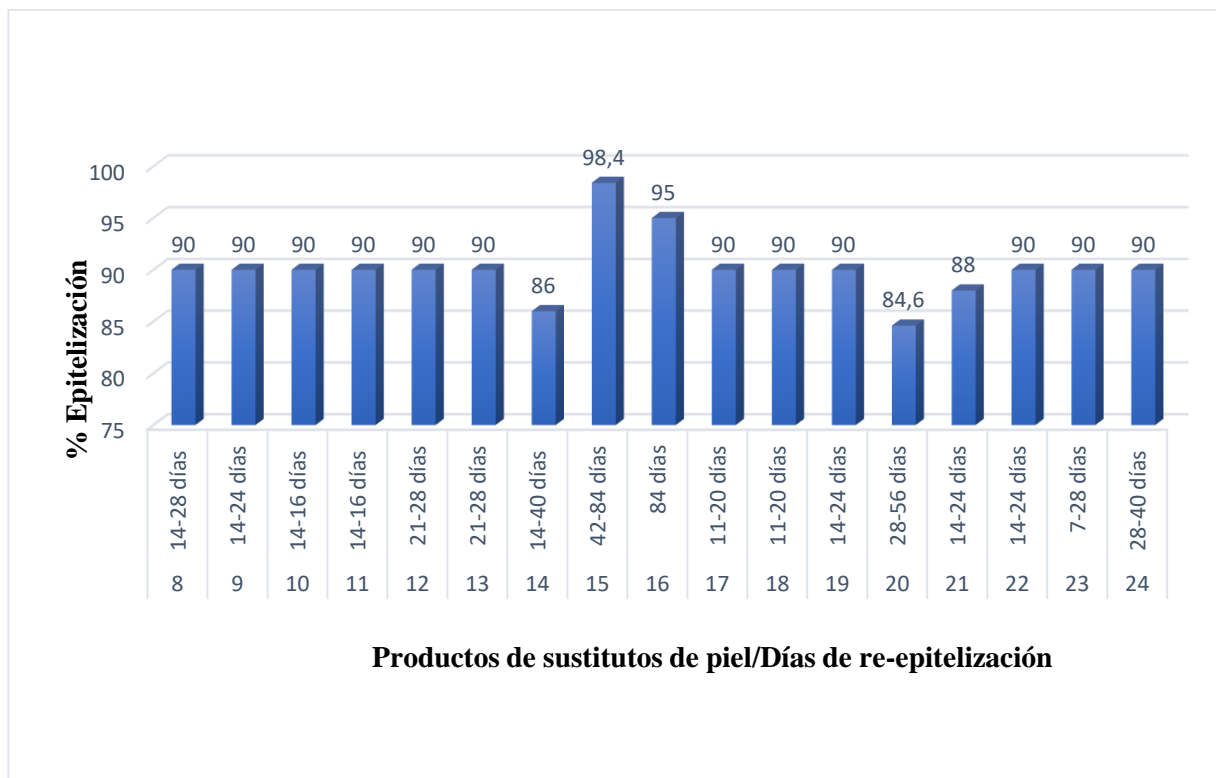


Figura 8. Productos disponibles de sustitutos dérmicos. Los 17 productos pertenecen a diferentes tipos de sustitutos de piel. Los números del 8 y 9 corresponden a productos de sustitutos de piel de origen autólogos, en cambio del número 10 al 19 son alogénicos y los restantes corresponden a los de origen xenógenicos. 8. Pelnac Standard, 9. Hyalomatrix PA, 10. GraftJacketNow™, 11. AllomaxSurgicalGraft, 12. Allodermo®, 13. SureDerm, 14. Allopatch®, 15. Dermagraft®, 16. Apligraf®, 17. Biobrane®, 18. TransCyte®, 19. Terudermis, 20. Oasis®, 21. Integra®, 22. Matriderm®, 23. Primatrix™ Dermal Repair Scaffold, 24. Strattice™ Reconstructive Tissue Matrix. Fuente: **Elaboración propia**

3.1.2.3. Sustitutos de piel dermoepidérmicos

Los sustitutos dermoepidérmicos son un tratamiento prometedor que ayudan a la cicatrización de heridas de la piel, estos a su vez se componen de dos capas que incluyen componentes dérmicos y epidérmicos. Este tipo de sustitutos fueron desarrollados porque imitan perfectamente la estructura anatómica de la epidermis y dermis de la piel, sin embargo, presentan algunos inconvenientes varios como el alto costo, la vida útil corta y la posibilidad de rechazo del tejido por parte del huésped. (Savoji et al., 2018). Para su fabricación se utilizan los siguientes tipos de células: fibroblastos dérmicos y

queratinocitos (extraídos de una biopsia de piel), fibroblastos y queratinocitos extraídos del prepucio neonatal como se muestra en la Tabla 3. Estos tipos de células pueden ser de origen autólogo, alogénico y xenogénico y se cultivan en andamios. Los sustitutos dermoepidérmicos que se encuentran en la Tabla 3, utilizan diferentes andamios para su fabricación, estos andamios están hechos por biomateriales como: colágeno bovino, glicosaminoglicanos, colágeno de tipo I y dermis porcina.

Para elaborar un sustituto de piel a nivel de laboratorio, se requiere una biopsia de piel de 1 -2 cm^2 , proceso que consiste en una extracción del tejido donante. Tras la disección quirúrgica, el aislamiento de las células se debe realizar mediante digestión enzimática, el cual consiste en utilizar enzimas como la tripsina o colagenasa, con el fin de poder eliminar la matriz extracelular. La digestión enzimática, primeramente, separará la dermis y epidermis, a partir de ello se podrá aislar los diferentes tipos de células como queratinocitos, melanocitos, fibroblastos dérmicos y células endoteliales vasculares, para que posteriormente estas células puedan ser cultivadas en medios específicos. Para el desarrollo de este tipo de sustituto de piel, sembrará fibroblastos dérmicos en un andamio, después se añade queratinocitos sobre el mismo cultivo como se muestra en la Figura 9. Finalmente se comprueba la viabilidad celular y se obtiene el sustituto (**Hartmann et al., 2016**).

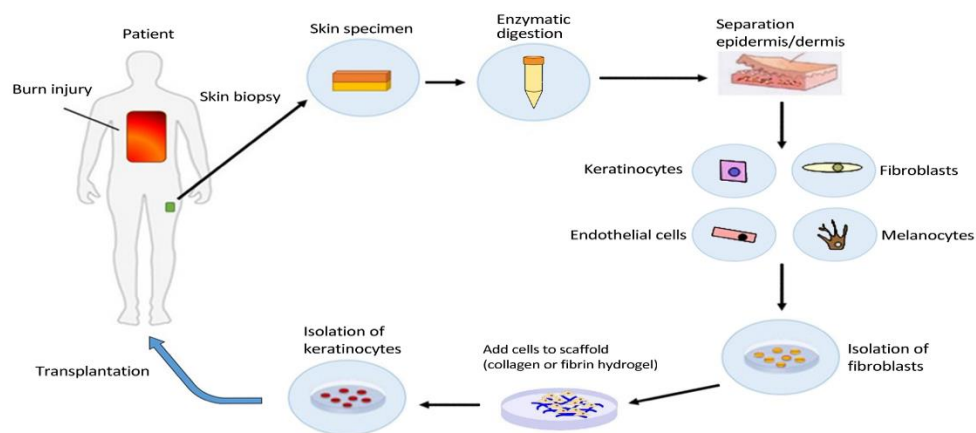


Figura 9. Proceso de elaboración de sustitutos de piel dermoepidérmicos. Los pasos principales son: Biopsia, digestión enzimática, expansión y aislamiento de células, cultivo

de células en el andamio de fibroblastos, cultivo de queratinocitos. Fuente: **(Hartmann et al., 2016)**.

Se realizó una revisión de sustitutos dermo-epidérmicos disponibles en el mercado con sus respectivas características, como se muestra en la Tabla 3. Durante esta investigación se pudo destacar que este tipo de sustitutos pueden ser de origen: autólogo, alogénico y xenogénico. Los sustitutos de origen autólogo son: Permaderm™ tiene un tiempo de re-epitelización de 14-24 días y un 80 % de epitelización y Tiscover™ tiene un tiempo de re-epitelización de 30-182 días y un 80 % de epitelización. En cambio, los sustitutos de origen alogénico son: Apligraf® tiene un tiempo de re-epitelización de 20-90 días y un 95 % de epitelización, Orcel ® tiene un tiempo de re-epitelización de 12-30 días y un 80 % de epitelización y, Karoskin tiene un tiempo de re-epitelización de 12-30 días y un 85 % de epitelización, StrataGraft™ tiene un tiempo de re-epitelización de 28-90 días y un 95 % de epitelización. Finalmente, los sustitutos de origen xenogénico son: Unite®Biomatrix Collagen Wound Dressing tiene un tiempo de re-epitelización de 14-24 días y un 90 % de epitelización, Ez-Derm™ tiene un tiempo de re-epitelización de 20-30 días y un 90 % de epitelización.

Los sustitutos dermo-epidérmicos que poseen mayor porcentaje de epitelización son Apligraf® y StrataGraft™ con un porcentaje de epitelización del 95 % (Figura 10). Los demás sustitutos de piel poseen un considerado porcentaje de epitelización desde 80 % hasta 90 %, que comparado con los que tienen mayor porcentaje solo existe una diferencia del 15 % como se muestra en la Figura 10. Además, dentro de los productos de sustitutos temporales se encuentran: Ez-Derm™, Apligraf® y Orcel ®, mientras que los sustitutos permanentes son: Permaderm™, Tiscover™, Karoskin, StrataGraft™, Unite®Biomatrix Collagen Wound Dressing **(Kelangi et al., 2020)**

Tabla 3. Productos de sustitutos dermoepidérmicos disponibles en el mercado

Dermoepidérmicos											
Tipo de sustitutos	Nombre del Producto	Celular o Acelular	Componentes	Instrucciones	Tiempo de Reepitelización	% Epitelización	Vida útil/Almacenamiento	Compañía	Tamaño límite	Cost Bajo (\$ 250 a \$ 400) Alto (\$ 600 a \$ 10000)	Fuente
AUTOLÓGOS	25. Permaderm™	celular	Fibroblastos y queratinocitos autólogos cultivados con sustratos de colágeno bovino y glicosaminoglicanos	Heridas agudas y crónicas	14-24 días	80	2 años; Temperatura ambiente	Regeninic Inc.USA	4 cm* 4cm	Alto	(Komal et al., 2017)
	26. Tiscover™	celular	Fibroblastos y queratinocitos de prepucio neonatal cultivados con de colágeno de tipo I	Heridas crónicas	30-182 días	80	Temperatura ambiente	Advanced Tissue Medicinal Product, Netherlands	4 cm* 4cm	Alto	(Dhasmana et al., 2018)
ALOGÉNICOS	27. Orcel ®	celular	Fibroblastos y queratinocitos de prepucio neonatal	Heridas agudas y crónicas	12- 30 días	80	Refrigeración	Ortec International Inc., USA	6 cm * 6 cm	Alto	(Urciuolo et al., 2019)

			cultivados con de colágeno de tipo I								
	28. Karoskin	celular	Sustituto de piel con células dérmicas y epidérmicas	Heridas agudas y crónicas	12-30 días	85	Temperatura ambiente	Karocell Tissue Engineering AB, Sweden	4 cm* 4cm	Alto	(Dhasmana et al., 2018)
	29. StrataGraft™	celular	Sustituto de piel de espesor total con capas dérmicas y epidérmicas completamente diferenciadas	Heridas crónicas	28-90 días	95	Refrigeración	Stratatech Corporation, USA	8 cm * 12.5 cm	Alto	(Komal et al., 2017)
XENO_G ÉNICOS	30. Unite®Biomatrix Collagen Wound Dressing	acelular	Sustituto de piel con células dérmicas y epidérmicas	Heridas agudas y crónicas	14-24 días	90	3 años; Temperatura ambiente	Synovis Orthopedic and Woundcare, Inc	5cm * 8 cm	Alto	(Day & Calne, 2016)
	31. Ez-Derm™	acelular	Dermis porcina	Heridas agudas y crónicas	20-30 días	90	Temperatura ambiente	AM Scientifics/Brennen Medical	8 cm * 12 cm	Bajo	(Day & Calne, 2016)

Fuente: **Elaboración propia**

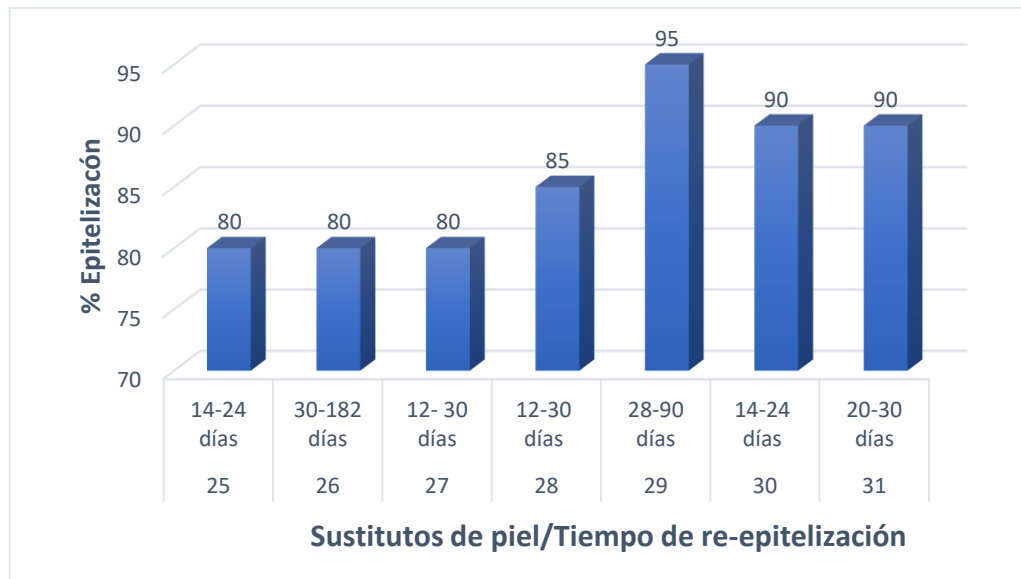


Figura 10. Productos disponibles de sustitutos dermo-epidérmico. Los números 25, 26 corresponden a sustitutos de piel de origen autólogos, mientras que el 27, 28,29 ,30 son alogénicos y los restantes son de origen xenogénicos. **25.** Permaderm™,26. Tiscover™,27. Orcel ®, 28. Karoskin, 29. StrataGraft™, 30. Unite®Biomatrix Collagen Wound Dressing, 31. Ez-Derm™ Fuente: **Elaboración propia**

3.1.3. Estudios preclínicos y clínicos de la aplicación de sustitutos de piel en el tratamiento de quemaduras y heridas.

Para que un sustituto de piel aparezca en el mercado debe tener las siguientes características: adherencia rápida y sostenida a la superficie de la herida, impermeabilidad a bacterias externas, produzcan la transmisión de vapor de agua similar a la piel normal, estructura de la superficie interna que permita la migración, proliferación y crecimiento celular del tejido nuevo, flexible y maleable para que se adapte a las superficies irregulares de las heridas, biodegradable, bajo costo, vida útil indefinida, requisitos mínimos de almacenamiento y no antigénico (Snyder & Sullivan, 2020). Además, de presentar estas características, los sustitutos de piel deben pasar por estudios preclínicos o clínicos.

Por lo general, los estudios preclínicos suelen ser en animales (ratones) y proporcionan información detallada sobre la dosificación y los niveles de toxicidad con el objetivo de poder prevenir los efectos adversos en las personas. En las fases finales de los estudios clínicos participan humanos y se evalúa si el tratamiento funciona y si tiene efectos

secundarios (**Jackson et al., 2016**). En la actualidad es evidente que las pruebas en animales a veces no predicen con precisión los resultados en humanos, sin embargo, su similitud genética y fisiológica hacen que industrias biotecnológicas los utilicen como base para determinar su posterior aplicación y beneficio en humanos. Una vez aprobados y disponibles en el mercado, los sustitutos continúan siendo evaluados con el objetivo de modificar la composición inicial del producto o a su vez sacarlo completamente del mercado en caso de existir efectos secundarios graves (**Savoji et al., 2018**). Aunque los avances en el área han sido extremadamente importantes los sustitutos de piel actualmente disponibles en el mercado aún tienen varias limitaciones como se indica a continuación: a) requieren mucho tiempo debido a los extensos procedimientos de cultivo celular y tiempo de producción, b) su incapacidad para proporcionar una temperatura adecuada, el control, aislamiento, la pigmentación, c) falta de integración en el tejido del huésped y problema de rechazo inmunológico, d) desarrollo de cicatrices en los márgenes del sustituto, e) riesgo de transmisión de agentes infecciosos f) los costos de productos (**Sánchez et al., 2021**). Por lo tanto aún se requiere de investigaciones que permitan el diseño y fabricación de sustitutos con mejores características.

En la Tabla 4, se muestra los estudios preclínicos y clínicos de sustitutos Epidérmicos. En el caso del sustituto Epidex no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se ha demostrado su eficacia en un estudio de 30 pacientes con quemaduras extensas en el que se determinó que el 100% de los pacientes mostraron una tasa de recuperación del 70 % en la zona tratada. En el sustituto Epicel no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se ha demostrado su eficiencia en un estudio retrospectivo en 68 pacientes con heridas crónicas en el cual se obtuvo que el 74 % de los pacientes cicatrización las heridas y del 15 % se redujo el área de la herida. En el sustituto Bioseed-S no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se ha demostrado su eficacia en un estudio de 44 pacientes con úlceras venenosas en el que se demostró que 35 pacientes lograron la cicatrización completa y 9 pacientes no respondieron al tratamiento.

En la Tabla 5, se muestra los estudios preclínicos y clínicos de sustitutos Dérmicos. En el caso del sustituto Pelnac Standard si se encontraron estudios preclínicos estos fueron desarrollados en modelos de ratones C57BL/6 con heridas cutáneas en el que se demostró que los animales formaron el tejido de granulación durante los primeros 6 días, en cuanto a estudios clínicos se iniciaron en 8 pacientes con heridas en el cuero cabelludo y en las extremidades en el cual se obtuvo que el 100% de los pacientes lograran una cicatrización completa en 13 semanas. En el sustituto Hyalomatrix PA no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se ha demostrado su eficacia en un estudio de 300 pacientes con quemaduras profundas en el que se obtuvo que el 83% de los pacientes lograron una cicatrización completa en el área de la herida tratada. En el sustituto Dermagraft® no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se ha demostrado su eficacia en un ensayo clínico de 314 pacientes con úlceras de pie diabético en el que se demostró que el 100 % de los pacientes lograron cicatrizar sus heridas con un porcentaje de epitelización del 90%.

En la Tabla 6, se muestra los estudios preclínicos y clínicos de los sustitutos de piel Dermoepidérmicos. En el caso del sustituto Tiscover™ no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se hizo un estudio de 66 pacientes con heridas crónicas en el que se demostró que el 100 % de los pacientes fueron cicatrizando sus heridas significativamente. En el sustituto StrataGraft™ no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se ha demostrado su eficacia en un estudio de 15 pacientes con heridas crónicas en el que se obtuvo que las heridas comenzaron a cicatrizar después de 2 semanas de haberse colocado el sustituto. En el sustituto Ez-Derm™ no se encontró información disponible en cuanto a estudios preclínicos, sin embargo, en estudios clínicos se realizó un estudio de 157 pacientes en el que se determinó que 141 pacientes cicatrizaron sus heridas correctamente y 18 tuvieron complicaciones.

Tabla 4. Estudios Preclínicos y Clínicos de Sustitutos Epidérmicos

Sustitutos Epidérmicos						
Productos	Estudios Preclínicos	Resultados	Estudios clínicos	Resultado	Aprobación por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) o por Empresas	Fuente
1.EpiDex	No se realizo	-	En un estudio de 30 pacientes con quemaduras extensas se utilizó el producto Epidex	Los 30 pacientes presentaron una tasa de recuperación del 70 % en la zona de la herida tratada.	Fabricado en Euroderm AG, Baden en el 2012	(Kelangi et al., 2020)
2.Epicel	No se realizo	-	Estudio retrospectivo sobre el tratamiento con Epidex de 68 pacientes de Suiza con heridas crónicas	74 % de los pacientes cicatrizaron las heridas, del 15 % se redujo el área de la herida y 11 % no respondieron al tratamiento.	Epicel está aprobado por la FDA en el año 2007	(Yano et al., 2016)
3. Bioseed-S	No se realizo	-	En un ensayo de 44 pacientes recibieron tratamiento con Bioseed-S para sus	35 pacientes lograron la cicatrización completa y 9 no	Fabricado en BioTissue Technologies GmbH, Germany en el 2007	(Gonzalez & Oualla, 2020)

			úlceras venenosas crónicas	respondieron al tratamiento		
--	--	--	----------------------------	-----------------------------	--	--

Fuente: **Elaboración propia**

Tabla 5. Estudios Preclínicos y Clínicos de Sustitutos Dérmicos

Sustitutos Dérmicos						
Productos	Estudios Preclínicos	Resultados	Estudios clínicos	Resultado	Aprobación por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) o por Empresas	Fuente
4. Pelnac Standard	Se realizó un análisis de la eficiencia de Pelnac en modelos de ratones C57BL/6 con heridas cutáneas	Los animales mostraron tejido de granulación durante los primeros 6 días. Además, las plantillas de Pelnac mostraron un comportamiento biológico comparable en	En un estudio 8 pacientes fueron tratados con Pelnac para cubrir heridas en el cuero cabello y las extremidades	Los 8 pacientes lograron una cicatrización completa en 13 semanas. Solo quedaron una o dos cicatrices lineales en el área original de la herida.	Producido en la Empresa Gunze Ltd en el 2015	(T. Liu et al., 2019) (Lou et al., 2018)

		la reparación de tejidos				
5.Hyalomatrix PA	No se realizo	-	Se realizo un estudio de Haylomatrix en el tratamiento de 300 pacientes con quemaduras profundas	El 83% de los pacientes lograron una cicatrización completa en el área de la herida tratada. Los pacientes tuvieron una curación a partir de los 21 días	Hyalomatrix PA está aprobado por la FDA en el año 2007	(Kozuko et al., 2020)
6.Dermagraft®	No se realizo	-	Se realizó un ensayo clínico en el que 314 pacientes fueron tratados con Dermagraft. Los pacientes tenían úlceras de pie diabético.	Los 314 pacientes lograron cerrar completamente sus heridas. El porcentaje de epitelización fue 90%	Dermagraft ha sido aprobada por la FDA de EE. UU como un dispositivo medico de Clase III en 2009	Przekora, 2020)
7.Apligraf®	No se realizo	-	Se realizó un estudio clínico de Apligraf en el tratamiento de un subgrupo de pacientes con úlceras	El cierre de las heridas fue a partir de los 40 días, además todos los pacientes lograron cerrar sus heridas completamente	Apligraf aprobado por la FDA para la curación de úlceras venosas de las piernas y del pie diabético en el año 2010	(Eudy et al., 2021)
8.TransCyte®	No se realizo	-	Se realizó un estudio acerca de la seguridad	Las heridas tratadas con TransCyte	TransCyte ha sido aprobada por la FDA de	

			y eficacia de TransCyte para el Tratamiento de quemaduras crónicas. TransCyte se utilizó en 14 pacientes	cicatrizaron rápidamente a partir de los 18,14 días y tuvieron un porcentaje de epitelización de 90%	EE.UU como un dispositivo medico de Clase III en 2000	(Vyas & Vasconez, 2014)
9.Integra®	No se realizo	-	Estudio acerca de Integra como técnica novedosa en manejo de pies quemados, en un hombre de 52 años.	Los pies del paciente tuvieron un porcentaje de epitelización del 90%. Además el paciente tuvo un resultado funcional exitoso	La FDA aprueba la matriz de regeneración dérmica Integra para tratar úlceras de pie diabético en el 2001	(Mohammed & Caffrey, 2018)
10.Matriderm®	No se realizo	-	En un estudio clínico se ocupó Matriderm para la reconstrucción de heridas complejas en 20 pacientes.	Los resultados fueron los siguientes 12 pacientes (63,2%) cicatrizaron correctamente sus heridas y 8 pacientes (36,8%) se quejaron de la cicatriz inaceptable	Realizado en MedSkin Solution en el 2014	(Ben et al., 2020)

Fuente: **Elaboración propia**

Tabla 6. Estudios Preclínicos y Clínicos de Sustitutos Dermoepidérmicos

Dermoepidérmicos						
Productos	Estudios Preclínicos	Resultados	Estudios clínicos	Resultado	Aprobación por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) o por Empresas	Fuente
11..Tiscover TM	No se realizo	-	Los primeros estudios clínicos fueron evaluados en 66 pacientes con heridas crónicas, a los cuales se hizo seguimiento después de haberse aplicado Tiscover	Los datos del ensayo demostraron que la aplicación de Tiscover es segura y además que presenta una mejora significativa en la cicatrización de heridas	Fabricado por la empresa Advanced Tissue Medicinal Product, Netherlands en el 2004	(Varkey et al., 2015)
12.StrataGraf ^{†TM}	No se realizo	-	Se hizo una evaluación clínica de StrataGraft en 15 pacientes con heridas crónicas	Los pacientes comenzaron a cicatrizar sus heridas después de 2 semanas de haberse puesto el sustituto. El sustituto tambien puede eliminar el riesgo de transmisión de enfermedades asociado con el tejido del sustituto, además ofrece protección adicional al lecho de la herida	Fabricado en Stratatech Corporation, USA en el 2006	(Komal et al., 2017)

13. Ez-Derm™	No se realizo	-	El uso de Ez-Derm™ en quemaduras; una revisión institucional de 157 pacientes	Se identificaron un total de 141 pacientes se observó una cobertura de heridas consistente, duradera y rentable sin complicaciones mínimas. Dieciocho pacientes presentaron complicaciones.	Ez-Derm™ ha sido aprobada por la FDA de EE.UU sustituto de heridas crónicas en 1994	(Day & Calne, 2016)
--------------	---------------	---	---	---	---	--------------------------------

Fuente: **Elaboración propia**

En base a lo investigado en este proyecto no se encontró evidencia disponible de estudios preclínicos en todos los sustitutos de piel pero si encontró evidencia de estudios clínicos. Se puede decir que no todos los sustitutos de piel necesitan ser evaluados en un modelo preclínico, sino que pueden pasar directamente a una evaluación clínica en humanos. Esto puede deberse a que la mayoría de los sustitutos comercialmente disponibles están elaborados con células del propio paciente o líneas celulares estandarizadas para generación de sustitutos de piel lo cual ayudaría a reducir esas fases de evaluación. Otras razones pueden ser que se están realizando con protocolos estrictos y estandarizados ya probados y porque los biomateriales de los andamios han demostrado ser seguros en investigaciones previas.

3.2. Discusión de los resultados

A nivel mundial cada año existen muchos pacientes que sufren quemaduras, úlceras diabéticas, úlceras por presión y úlceras venenosas. Este tipo de heridas a menudo no cicatrizan fácilmente debido a la extensión y profundidad de la herida y por lo tanto, requieren la ayuda de sustitutos de piel para acelerar la cicatrización de las heridas y mejorar la calidad de vida del paciente. El tratamiento de heridas crónicas presenta un desafío importante, debido a que la regeneración de la piel se ve obstaculizada por un pH alcalino mayor o igual a 7,15 que se produce en el lugar de la herida, este pH es óptimo para la actividad de las metaloproteinasas y el crecimiento bacteriano. Por lo tanto, el sustituto de piel que se utilice debe ser capaz de reducir este pH, de modo que se pueda inhibir la actividad de las metaloproteinasas y prevenir infecciones (**Lluch et al., 2017**). Esto ha exigido la aparición de varios sustitutos de piel en el tratamiento de lesiones como se muestra en la Tabla 1, 2 y 3. En las últimas décadas se han hecho grandes progresos en el desarrollo de sustitutos de piel gracias a la participación de la ingeniería de tejidos y su capacidad de combinar nuevas tecnologías de fabricación avanzada con biomateriales y sistemas de cultivo celular.

El acto de utilizar biomateriales naturales y sintéticos para el desarrollo de sustitutos de piel está sujeto a la respuesta inmunitaria del cuerpo (**Przekora, 2020**). La naturaleza

compleja del sistema inmunitario del cuerpo involucra muchos tipos de células y procesos biológicos diferentes que en última instancia determinarían el éxito de un sustituto de piel (**Cottone et al., 2021**). En el estudio realizado por Schiestl y colaboradores se compararon sustitutos acelulares fabricados con biomateriales naturales y sintéticos y se detalla que los materiales biológicos son susceptibles a la contaminación microbiana en ausencia de agentes antimicrobianos debido a sus propiedades biológicas de poder interactuar con las bacterias. En comparación, los polímeros sintéticos a menudo se degradan por hidrólisis y por ende son menos propensos a la contaminación bacteriana (**Schiestl et al., 2021**).

Los avances recientes en la ingeniería de tejidos de la piel han ofrecido mejorar significativamente el resultado clínico en la cicatrización de heridas agudas y crónicas, sin embargo, todavía hay algunas inconvenientes que deben abordarse para proporcionar sustitutos de piel con un proceso de cicatrización adecuado (**Savoji et al., 2018**). Por lo tanto, el objetivo de la ingeniería de tejidos es fabricar un sustituto de piel complejo que no deje cicatrices en la zona de la herida, y que además se pueda colocar en grandes cantidades en una sola intervención quirúrgica con una mínima probabilidad de rechazo por parte del huésped (**Sánchez et al., 2021**). Los sustitutos de piel tienen que lograr una vascularización eficiente para proporcionar una mejor integración con el tejido huésped y una cicatrización temprana de la herida (**Manita et al., 2021**). La ingeniería de tejidos se centra también en mejorar el diseño de los biomateriales, el potencial de las células madre y en el desarrollo de estrategias de bioimpresión tridimensional (**Fateme & Leu, 2020**).

La producción de sustitutos epidérmicos depende de las técnicas de cultivo celular, la etapa de diferenciación celular y organización epitelial, los métodos de administración de células al paciente, el uso de sustratos adicionales para mejorar el cultivo celular. Los sustitutos dérmicos han logrado cierto éxito clínico en la restauración de la piel dañada, pero aún tienen inconvenientes por resolver como disminuir o anular los tiempos de cicatrización prolongados y la cicatrización sin apéndices cutáneas (**Cortez et al., 2021**). Los sustitutos dermoepidérmicos son productos más avanzados que proporcionan factores de crecimiento, citoquinas y matriz extracelular para las células huésped y así poder lograr el cierre estable de heridas con una cicatrización mínima. A pesar del potencial y la

necesidad de los sustitutos de piel, se requiere más investigación no solo para fortalecer la evidencia científica sobre sus efectos, sino también para desarrollar nuevas tecnologías y productos **(Huang et al., 2018)**. Los sustitutos de piel de origen autólogo se han recomendado para aplicaciones clínicas debido a que pueden transformarse en sustitutos permanentes después de que se haya colocado el sustituto en el área de la herida. Este tipo de sustitutos no presenta rechazo inmunitario, sin embargo, existen varias limitaciones incluida la falta de apéndices cutáneos y los requisitos de tiempo **(Q. Zhang et al., 2020)**. En la Tabla 2 y 3 se muestran productos de sustitutos de piel de origen xenogénico. Este tipo de sustitutos han ido evolucionando durante los últimos años, de tal manera que en la actualidad se encuentran una variedad de sustitutos provenientes de diferentes animales, pero entre los más comunes son a base de cerdo **(Fiakos et al., 2020)**.

Durante el desarrollo de esta investigación se encontró una variedad de productos de sustitutos de piel epidérmicos, dérmicos y dermo-epidérmico de origen autólogo, alogénico y xenogénico, como se muestran en las Tablas 1,2 y 3. En la Figura 6, se puede observar que Epicel y Bioseed-S tienen el mayor porcentaje de epitelización con respecto a los demás sustitutos epidérmicos. Epicel representa una solución biológica basada en células autólogas que salvan y cambian vidas. Epicel se utiliza como tratamiento para paciente con quemaduras superiores al 75 % de la superficie corporal total. Algunas desventajas de Epicel son el costo y que requiere mucho tiempo de producción. **(Brockmann et al., 2018)**. Bioseed-S se ha utilizado principalmente para tratar úlceras venenosas crónicas de la pierna y ha demostrado que puede brindar una cicatrización del 85% en las heridas, unas de sus desventajas es su alto costo de producción **(Han & Ceilley, 2016)**.

En la Figura 8, se puede observar que Dermagraft® y Apligraf® tienen el mayor porcentaje de epitelización con respecto a los demás sustitutos dérmicos. Dermagraft® es un producto que se ha utilizado clínicamente para la cicatrización de heridas en la piel. En un estudio se demostró que pacientes tratados con Dermagraft® se curaron aproximadamente cuatro veces más rápido que otros sustitutos de piel. **(Tavakoli & Klar, 2021)**. Apligraf® está aprobado para el uso en úlceras venosas en las piernas y úlceras

del pie diabético. Apligraf® no contiene otras estructuras de la piel como apéndices, vasculatura, células de Langerhans, macrófagos, linfocitos o melanocitos. **(Kelangi et al., 2020)**.

En la Figura 8, se puede observar que Strata Graft™, Unite®Biomatrix Collagen Wound Dressing y Ez-Derm™ tienen el mayor porcentaje de epitelización con respecto a los demás sustitutos de piel dermo-epidérmicos. Strata Graft™ garantiza un porcentaje de cicatrización del 95% en las heridas. Una de las desventajas de Strata Graft™ es que presenta efectos secundarios comunes como picazón, ampollas, cicatriz hipertrófica, hinchazón, calor y en ciertas ocasiones infecciones en el sitio de la herida **(Gibson et al., 2021)**. Unite®Biomatrix Collagen Wound Dressing, es un producto flexible, duradero, seguro y compatible, además es un sustituto fácil de manipular. Una desventaja de este producto es que hasta el momento su uso a sido limitado, ya que se agotó cuando se lanzó por primera en el mercado **(Snyder & Sullivan, 2020)**. Ez-Derm™, ha demostrado ser un sustituto de piel fácil de manejar y de usar, asimismo reduce el dolor, es rentable y proporciona un entorno propicio para la cicatrización de heridas, una de sus desventajas es su costo de producción **(Day & Calne, 2016)**.. El producto que tiene el mayor porcentaje de epitelización es Dermagraft® con 98.4 %.

En la Tabla 4, se puede observar los diversos estudios preclínicos y clínicos de los diferentes tipos de sustitutos de piel disponibles en el mercado. Al realizar estos estudios se demuestra la validez y la eficacia de los productos durante su uso. El tiempo de reepitelización y el porcentaje de epitelización se encuentran entre los aspectos más importantes al elegir un sustituto de piel. Los sustitutos de piel ofrecen perspectivas prometedoras, sin embargo, deben cumplir una serie de características que permitan su uso clínico: a) requisitos éticos y legales; para ser aceptados, los ensayos clínicos deben cumplir por ejemplo con la declaración de Helsinki y las pautas de Buena Parte clínica. En Europa deben cumplir con las pautas de la Agencia Europea de Medicamentos. En Estados Unidos deben estar aprobados por la FDA. La aprobación de la fabricación de sustitutos dependerá del país donde se vaya a utilizar. b) funciones protectoras y resistencia a la infección, c) funciones biológicas, d) capaz de prevenir la pérdida de agua

y la acumulación de agua, d) viscosidad, e) baja antigenicidad, f) soportar fuerzas de corte y tensiones mecánicas, f) Tolerante a la hipoxia, g) componentes dérmicos, h) larga vida útil y el costo (**Boyce & Lalley, 2018**). Los sustitutos de piel derivados de células representan uno de los retos críticos de la ingeniería de tejidos y tiene que ser superado con el objetivo de ofrecer a cada paciente la terapia más eficiente que se ajuste a su caso clínico y le permita tener una buena calidad de vida (**Gonzalez & Oualla, 2020**).

En el 2019, se estudiaron las posibles complicaciones que pueden experimentar los sustitutos de piel cuando se colocan en los pacientes: sangrado, fracaso del sustituto, la infección en el sitio donante o receptor, mala cicatrización, sensación aumentada es posible que el cabello no crezca, el tejido del sustituto se contrae, mala cicatrización, diferencias en la coloración de la piel. Algunos factores que pueden aumentar el riesgo de las complicaciones incluyen la edad, mala salud en general, uso de ciertos medicamentos y la edad (**Sánchez et al., 2021**).

La escasez de donantes de piel para pacientes con heridas graves advierte la necesidad vital de alternativas, por lo que uno de los avances que se ha hecho durante las últimas tres décadas es la bioimpresión 3D, que ha demostrado ser un tratamiento eficaz para la reparación y regeneración de heridas. La bioimpresión en 3D es una tecnología innovadora que se utiliza para la fabricación de piel basadas en biotintas naturales o sintéticas, cargadas o no con células nativas de la piel en la estructura jerárquica 3D prescrita para crear capas múltiples artificiales y únicas. (**Weng et al., 2021**).

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Al investigar la asociación de la biología de la piel y la regeneración natural de las heridas se puede concluir que es de suma importancia el desarrollo de sustitutos de piel, debido a que existen varios casos de pacientes con quemaduras o úlceras a nivel mundial incluyendo Ecuador. Normalmente este tipo de lesiones no suelen recuperarse a través de las fases normales de la cicatrización de la piel, puesto que estas heridas son demasiado extensas y profundas y por ende requieren la ayuda de sustitutos de piel para poder cicatrizar rápido las zonas de las heridas y así poder brindar una mejor calidad de vida al paciente. Los resultados indican que Estados Unidos tiene la mayor incidencia de pacientes con heridas crónicas, con aproximadamente 1,1 millones de pacientes que sufren quemaduras y 2,5 millones con úlceras cada año. Varias estadísticas indican que, en Irán, Kuwait, Turquía, Sri Lanka, Arabia Saudí, Afganistán, India y Pakistán, la tasa de mortalidad hospitalaria por quemaduras y úlceras varían entre 7,4 % y el 62 % (Figura 3). Por lo tanto, continentes como Norte América, Europa, Asia, Sudamérica, Medio Oriente y África han mostrado muchas aportaciones e interés en la producción de sustitutos de piel.
- De acuerdo con la contraposición realizada de los diferentes tipos de células y biomateriales utilizados para el desarrollo de sustitutos epidérmicos, dérmicos y dermoepidérmicos, se concluye que los sustitutos epidérmicos utilizan queratinocitos autólogos y requieren de una superficie para el crecimiento celular. Los sustitutos dérmicos están constituidos por fibroblastos extraídos de fuentes autólogas, alogénicos y xenogénicos y andamios que son desarrollados a partir de biomateriales naturales o sintéticos. Los dermoepidérmicos contienen células de queratinocitos y fibroblastos

- dérmicos que son extraídas de las mismas fuentes de los dérmicos y de igual manera ocupan andamios para el crecimiento celular. Los diferentes productos de sustitutos pueden ser temporales, permanentes y sus células pueden ser extraídas de fuentes autólogas, alogénicas y xenogénicas. En cuanto a la cantidad de productos de sustitutos de piel que se encuentran disponibles en el mercado se analizó un total de 31, de los cuales 7 son sustitutos epidérmicos, 17 sustitutos dérmicos y 7 sustitutos dermoepidérmicos. De acuerdo con esta búsqueda y tomando en cuenta los aspectos más relevantes de cada sustituto se denota que el sustituto de piel con un porcentaje de epitelización más alto es Dermagraft® con un 98,4% con respecto a los demás productos. Además, se puede concluir que los sustitutos dérmicos son los más utilizados debido a que relativamente son fáciles de producir en grandes cantidades a un bajo costo, fáciles de almacenar y de manipular.

- De acuerdo con los gráficos estadísticos generados en la comparación de los diferentes sustitutos epidérmicos, dérmicos y dermoepidérmicos se concluye que los porcentajes de epitelización varían del 80 % al 98,4 % y el tiempo de re-epitelización varía de 7 a 182 días dependiendo del tipo de producto. En esta investigación no se encontraron suficientes estudios preclínicos debido a que en muchos de los casos se realizan estudios clínicos directamente, esto puede deberse al uso de células del propio paciente o a que los procesos de desarrollo de varios de sustitutos presentan características similares y por tanto se basan en estudios de sustitutos previamente investigados (Tabla 4). En cuanto a la cantidad de productos de sustitutos de piel que tenían estudios preclínicos y clínicos se encontró un total de 13, de los cuales 3 pertenecían a los sustitutos epidérmicos, 7 sustitutos dérmicos y 3 sustitutos dermoepidérmicos. Además, diversos sustitutos han sido aprobados por la FDA u organizaciones afines, lo que demuestra que ya son productos seguros y eficaces para la cicatrización de heridas.

4.2. Recomendaciones

- Los avances en el campo de la Ingeniería de Tejidos para desarrollar sustitutos de piel han avanzado significativamente sin embargo aún existen inconvenientes que deben ser superados para los cuales se requieren mayor investigación.
- No existen aún los suficientes artículos que señalen el proceso de rehabilitación que debe realizar una persona después de la aplicación de un sustituto de piel por lo que sería de gran aporte científico y social realizar este tipo de investigaciones.
- Es preciso que los hospitales, centros de salud públicos e instituciones de salud privadas del Ecuador realicen informes anuales de los casos de personas que ingresen por quemaduras o úlceras, debido a que no existen reportes claros y concisos del número de personas afectadas, así como tampoco del tipo de tratamiento que se utilizó para su rehabilitación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdo, J., Sopko, N., & Milner, S. (2020). The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. *ELSEVIER*, 28. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100179>
- Acosta, D., Soria, A., Barrezueta, Y., & Velasco, J. (2021). Incidencia de quemaduras en el hospital de niños Dr. Roberto Gilbert Elizalde, 2014-2020. Guayaquil-Ecuador. *Artículos de Investigación*. <https://doi.org/https://doi.org/10.30554/archmed.22.1.4215.2022>
- Agilinko, J., Drever, S., Kin, W., & Husaain, A. (2021). Acellular dermis (SureDerm®) use for managing pulsatile tinnitus: a long-term follow-up of a novel surgical technique. *GMS Interdiscip Plast Reconstr Surg DGPW*. <https://doi.org/10.3205/iprs000156>
- Agostinis, C., Spazzapan, M., Vuerich, R., Stocco, C., & Papa, G. (2021). Differential Capability of Clinically Employed Dermal Regeneration Scaffolds to Support Vascularization for Tissue Bioengineering. *Biomedicines*, 9. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101458>
- Albayrak, Y., Temiz, A., Albayrak, A., & Peksoz, R. (2018). A retrospective analysis of 2713 hospitalized burn patients in a burns center in Turkey. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* ., 24(1), 25–30. <https://doi.org/10.5505/tjtes.2017.82342>
- Ben, M., Eltayeb, H., & Milad, H. (2020). The use of MatriDerm® and skin graft for reconstruction of complex wounds. *Wounds Middle East*, 7(1).
- Boyce, S., & Lalley, A. (2018). Article Navigation Tissue engineering of skin and regenerative medicine for wound care. *Burns & Trauma*, 6. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s41038-017-0103-y>
- Brockmann, I., Ehrenpfordt, J., Sturmheit, T., & Kruse, C. (2018). Skin-Derived Stem Cells for Wound Treatment Using Cultured Epidermal Autografts: Clinical

- Applications and Challenges. *Stem Cells Int.* <https://doi.org/10.1155/2018/4623615>
- Brown, T., & Krishnamurthy, K. (2021). Histology, Dermis. *Statpearls*.
- Chandan, K. (2021). Human Wound and Its Burden: Updated 2020 Compendium of Estimates. *Advances in Wound Care*, 10(5). <https://doi.org/https://doi.org/10.1089/wound.2021.0026>
- Chermnykh, E., Kalabusheva, E., & Vorotelyak, E. (2018). Extracellular Matrix as a Regulator of Epidermal Stem Cell Fate. *Int J Mol Sci*, 19(4). <https://doi.org/10.3390/ijms19041003>
- Cortez, S., Larouche, D., Doucet, E., & Germain, L. (2021). The role of cultured autologous bilayered skin substitutes as epithelial stem cell niches after grafting: A systematic review of clinical studies. *ELSEVIER*, 5(2), 56–66. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.burnso.2021.02.002>
- Cottone, G., Amendola, F., Strada, C., Bagnato, M., & Brambilla, R. (2021). Comparison of Efficacy among Three Dermal Substitutes in the Management of Critical Lower-Limb Wounds: The Largest Biases-Reduced Single-Center Retrospective Cohort Study in Literature. *Medicina (Kaunas)*, 57(12), 1367. <https://doi.org/10.3390/medicina57121367>
- Day, K., & Calne, S. (2016). ACELLULAR MATRICES FOR THE TREATMENT OF WOUNDS. *Wounds International*, 1–16.
- Dearman, B., Boyce, S., & Greenwood, J. (2021). Advances in Skin Tissue Bioengineering and the Challenges of Clinical Translation. *Frontiers in Surgery*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fsurg.2021.640879>
- Deng, L., & Xu, L. (2017). Adaptation of human skin color in various populations. *Hereditas*. <https://doi.org/10.1186/s41065-017-0036-2>
- Dhasmana, A., Singh, S., Kadian, S., & Singh, L. (2018). Advances and Principles: Engineering Tissue S. *SCHOLARENA*, 1–11.
- Dickinson, L., & Gerecht, S. (2016). Engineered Biopolymeric Scaffolds for Chronic

- Wound Healing. *Frontiers in Physiology*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00341>
- Dovedytis, M., & Bartlett, S. (2020). Hyaluronic acid and its biomedical applications: A review. *Engineered Regeneration*, *1*, 102–113.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.10.001>
- Eudy, M., Eudy, C., & Roy, S. (2021). Apligraf as an Alternative to Skin Grafting in the Pediatric Population. *Cureus*, *13*(7). <https://doi.org/10.7759/cureus.16226>
- Fateme, F., & Leu, M. (2020). A Brief Review on 3D Bioprinted Skin Substitutes. *Procedia Manufacturing*, *48*, 790–796.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.promfg.2020.05.115>
- Fayyazbakhsh, F., & Leu, M. (2020). A Brief Review on 3D Bioprinted Skin Substitutes. *ScienceDirect*, *48*, 790–796. <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2020.05.115>
- Fiakos, G., Kuang, Z., & Lo, E. (2020). Improved skin regeneration with acellular fish skin grafts. *ELSEVIER*, *1*, 95–101.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.09.002>
- Frese, L., Darwiche, S., Rechenberg, B., Calcagni, M., & Giovanoli, P. (2021). Thermal conditioning improves quality and speed of keratinocyte sheet production for burn wound treatment. *CytoTherapy*, *23*(6), 536–547.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2021.01.006>
- Gibson, A., Holmes, J., Shupp, J., & Carson, J. (2021). A phase 3, open-label, controlled, randomized, multicenter trial evaluating the efficacy and safety of StrataGraft® construct in patients with deep partial-thickness thermal burns. *ELSEVIER*, *47*(5), 1024–1037. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.burns.2021.04.021>
- Gonzalez, A., & Oualla, W. (2020). From Grafts to Human Bioengineered Vascularized Skin Substitutes. *Biotechnology & Applied Microbiology*, *21*.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms21218197>
- Gushiken, L., Pereira, F., & Pellizzon, H. (2021). Cutaneous Wound Healing: An Update

- from Physiopathology to Current Therapies. *Life*, 665. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/life11070665>
- Haberzeth, S., Biedermann, T., & Reichmann, E. (2016). Tissue engineering of skin. *ELSEVIER*, 36, 450–460. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2009.08.016>
- Han, G., & Ceilley, R. (2016). Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. *SpringerLink*. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0478-y>
- Hartmann, F., Marino, D., & Reichmann, E. (2016). About ATMPs, SOPs and GMP: The Hurdles to Produce Novel Skin Grafts for Clinical Use. *Transfus Med Hemother*, 43, 344–352. <https://doi.org/https://doi.org/10.1159/000447645>
- Heather, A., Basehore, B., & Zito, P. (2021). Wound Healing Phases. *Statpearls*.
- Huang, C.-P., Chen, Cc.-C., & Shyr, C. (2018). Xenogeneic cell therapy provides a novel potential therapeutic option for cancers by restoring tissue function, repairing cancer wound and reviving anti-tumor immune responses. *Cancer Cell International Volume*, 9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s12935-018-0501-7>
- Iftikhar, N. (2019). What to Expect During the 4 Stages of Wound Healing. *Healthline*.
- Jackson, W., Gray, C., Jiang, D., & Connor, C. (2016). A Systematic Review of Pre-clinical Studies. *J Neurosurg Anesthesiol*, 361–372. <https://doi.org/10.1097/ANA.0000000000000348>
- Jaliman, D. (2021). What Is an Ulcer? *WebMD*.
- Janowska, A., Dini, V., Oranges, T., Iannone, M., & Loggini, B. (2019). Atypical Ulcers: Diagnosis and Management. *Single Anonymous Peer Review*, 14, 2137–2143. <https://doi.org/https://doi.org/10.2147/CIA.S231896>
- Jeschke, M., Baar, M., Choudhry, M., & Chung, K. (2020). Burn injury. *Nat Rev Dis Primers*, 6, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0145-5>
- Kelangi, S., Theocharidis, G., Veves, A., & Sheridan, R. (2020). On skin substitutes for

- wound healing: Current products, limitations, and future perspectives. *TECHNOLOGY*, 8–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1142/S2339547820300024>
- Khaddour, K., Hana, C., & Mewawalla, P. (2021). Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Statpearls*.
- Kim, L., Ross, G., & Bloemen, M. (2016). Outcome of Burns Treated with Autologous Cultured Proliferating Epidermal Cells: A Prospective Randomized Multicenter Inpatient Comparative Trial. *Sagejournals*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3727/096368915X689569>
- Kisiel, M., & Klar, A. (2019). Isolation and Culture of Human Dermal Fibroblasts. *Methods Mol Biol*, 71–78. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9473-1_6
- Komal, V., Atul, C., Sheta, T., Saurabh, D., & Rajnish, S. (2017). Avances en la regeneración de la piel mediante la ingeniería de tejidos. *Int J Mol Sci.*, 0(0), 18(4).
- Kozuko, S., Hassouba, M., Hill, D., & Liu, X. (2020). Esterified Hyaluronic Acid Matrix in Lower Extremity Reconstruction With Exposed Tendon and Bone: A Retrospective Review. *Burn Care & Research*, 41(4), 828–834. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jbcr/iraa044>
- Kusindarta, D., & Wihadmadyatami, H. (2018). The Role of Extracellular Matrix in Tissue Regeneration. *Licensee IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75728>
- Landen, N. X., Dongqing, L., & Stahle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cell Mol Life Sci.*, 3861–3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>
- Lawton, S. (2019). Skin 1: the structure and functions of the skin. *Nursing Times*, 115(12), 30–33.
- Li, Y., Xi, W., Merwe, L., Dai, W., & Lin, C. (2020). Efficacy of stem cell therapy for burn wounds: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Stem Cell Research -Therapy*, 322. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13287-020-01839->

- Liu, P., Chen, W., Liu, C., & Tian, M. (2019). A novel poly (vinyl alcohol)/poly (ethylene glycol) scaffold for tissue engineering with a unique bimodal open-celled structure fabricated using supercritical fluid foaming. *Scientific Reports*, 9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-019-46061-7>
- Liu, T., Chao, Q., & Ben, C. (2019). One-step approach for full-thickness skin defect reconstruction in rats using minced split-thickness skin grafts with Pelnac overlay. *Burns & Trauma*. <https://doi.org/10.1186/s41038-019-0157-0>
- Lluch, R., Cerrato, S., Brazis, P., & Rabanal, R, M. (2017). Proof of concept of a new autologous skin substitute for the treatment of deep wounds in dogs. *ELSEVIER*, 230(36–40). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.11.003>
- Lou, X., Xue, H., & Li, G. (2018). One-stage Pelnac Reconstruction in Full-thickness Skin Defects with Bone or Tendon Exposure. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000001709>
- Lozzo, R., & Schaefer, L. (2016). Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biol.*, 11–55. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.02.003>
- Manita, P., Garcia, I., Hernandez, R., & Igartua, M. (2021). 3D Bioprinting of Functional Skin Substitutes: From Current Achievements to Future Goals. *Pharmaceuticals (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/ph14040362>
- Mathew, N., Jeschke, M., & Amini, S. (2016). Methodologies in Creating Skin Substitutes. *Cell Mol Life Sci.*, 73, 3453–3472. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2252-8>
- Mellody, K., Bell, M., & Sherratt, M. (2016). The Skin Extracellular Matrix as a Target of Environmental Exposure: Molecular Mechanisms, Prevention and Repair. *Skin Stress Response Pathways*, 101–125. https://doi.org/10.1007/978-3-319-43157-4_5
- Mestrallet, G. (2021). Software development for Autologous Skin substitute production.

MedRxiv, 1–19. <https://doi.org/10.1101/2021.04.16.21255595>

- Mohammed, A., & Caffrey, J. (2018). The use of Integra™ as a novel technique in deep burn foot management. *JPRAS Open*, 17, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.jpra.2018.04.003>
- Morgun, E., & Vorotelyak, E. (2020). Epidermal Stem Cells in Hair Follicle Cycling and Skin Regeneration: A View From the Perspective of Inflammation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.581697>
- Murray, R., West, Z., June, A., & Farrugia, L. (2019). Development and use of biomaterials as wound healing therapies. *Murray et Al. Burns & Trauma*, 7. <https://doi.org/10.1186/s41038-018-0139-7>
- Negut, I., Dorcioman, G., & Grumezescu, V. (2020). Scaffolds for Wound Healing Applications. *Polymers (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/polym12092010>
- Nerem, R. (2008). *Advances in Tissue Engineering*. 3–12. https://doi.org/10.1142/9781848161832_0001
- Nobuyama, A., Shinobu, A., Songsu, K., & Kenji, A. (2019). The Simultaneous Application of OASIS and Skin Grafting in the Treatment of Tendon-exposed Wound. *Plastic and Reconstructive Surgery - Global*, 7(7), 130–140. <https://doi.org/10.1097/GOX.0000000000002330>
- Nourian, D., Mirahmadi, F., & Raeisi, D. (2019). Skin tissue engineering: wound healing based on stem-cell-based therapeutic strategies. *Stem Cell Research & Therapy*, 10. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1212-2>
- Ojeda, W., Pandey, A., & Alhadj, M. (2020). Anatomy, Skin (Integument). *Statpearls*.
- Okur, M., Karantas, I., & Senyigit, Z. (2020). Recent trends on wound management: New therapeutic choices based on polymeric carriers. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(6). <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2019.11.008>
- Pereira, R., & Bártolo, P. (2016). Traditional Therapies for Skin Wound Healing. *Adv*

- Wound Care*, 5, 208–229. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0506>
- Pfisterer, K., Shaw, L., Weninger, W., & Symmank, D. (2021). The Extracellular Matrix in Skin Inflammation and Infection. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 1578. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.682414>
- Philips, G., Nizamoglu, M., Wakure, A., & Barnes, D. (2020). The Use Of Dermal Regeneration Templates For Primary Burns Surgery In A UK Regional Burns Centre. *Ann Burns Fire Disasters*, 245–252.
- Przekora, A. (2020). A Concise Review on Tissue Engineered Artificial Skin Grafts for Chronic Wound Treatment: Can We Reconstruct Functional Skin Tissue In Vitro? *Cells*, 9,7. <https://doi.org/10.3390/cells9071622>
- Puttergill, B., & Ngutshane, B. (2018). Abdominal wall reconstruction with reconstructive tissue matrix. *South African Journal of Surgery*, 5, 123–130. <https://doi.org/10.17159/2078-5151/2018/v56n3a2430>
- Rekha, D., & Biswal, T. (2021). Alginate and its application to tissue engineering. *SpringerLink*, 30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s42452-020-04096-w>
- Rodríguez, M., Vega, B., Ramos, R., Saldaña, D., & Quiñones, F. (2015). Chitosan and Its Potential Use as a Scaffold for Tissue Engineering in Regenerative Medicine. *BioMed Research International*, 15. <https://doi.org/10.1155/2015/821279>
- Sánchez, A., Kim, K., Blasco, G., & Arias, S. (2021). Cellular human tissue-engineered skin substitutes investigated for deep and difficult to heal injuries. *Npj Regen Med*, 6(35). <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41536-021-00144-0>
- Santoro, M., Shah, S., Walker, J., & Mikos, A. (2016). POLY(LACTIC ACID) NANOFIBROUS SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING. *Adv Drug Deliv Rev*, 206–212. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.019>
- Savoji, H., Godau, B., Mohsen, S., & Akbari, M. (2018). Skin Tissue Substitutes and Biomaterial Risk Assessment and Testing. *Front. Bioeng. Biotechnol*, 0(0), 1–18.
- Schaefer, T., & Szymanski, K. (2021). Burn Evaluation And Management. *StatPearls*.

- Schiestl, C., Meuli, M., Vojvodic, M., & Pontiggia, L. (2021). Expanding into the future: Combining a novel dermal template with distinct variants of autologous cultured skin substitutes in massive burns. *Burns Open*, 5(3), 145–153. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.burnso.2021.06.002>
- Schimd, D. (2015). Burn Injuries: Statistics, Classifications, & Causes. *The National Law Review*, 7(17).
- Sen, C. (2019). Human Wounds and Its Burden: An Updated Compendium of Estimates. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 39–48. <https://doi.org/10.1089/wound.2019.0946>
- Shahrokhi, S., Arno, A., & Jeschke, M. (2015). No TitleThe Use of Dermal Substitutes in Burn Surgery: Acute Phase. *Wound Repair Regen*. <https://doi.org/10.1111/wrr.12119>
- Shaima, M., Maarof, M., & Fauzi, B. (2021). Synergistic Effect of Biomaterial and Stem Cell for Skin Tissue Engineering in Cutaneous Wound Healing: A Concise Review. *Polymers*, 1546–1550. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym13101546>
- Sharma, A., Zakka, L., & Mihm, M. (2017). Chapter 2: Anatomy of the Human Skin and Wound Healing. *Bioengineering in Wound Healing*, 27–57. https://doi.org/https://doi.org/10.1142/9789813144583_0002
- Sharma, P., Kumar, P., & Sharma, R. (2019). Tissue Engineering; Current Status & Futuristic Scope. *Journal of Medicine and Life*, 12, 225–229. <https://doi.org/10.25122/jml-2019-0032>
- Sheikholeslam, M., & Jeschke, M. (2017). Biomaterials for Skin Substitutes. *Adv Healthc Mater*, 0(0), 1–20.
- Shkarina, S., Shkarin, R., Melnik, E., & Loza, K. (2018). 3D biodegradable scaffolds of polycaprolactone with silicate-containing hydroxyapatite microparticles for bone tissue engineering: high-resolution tomography and in vitro study. *Scientific Reports*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-018-27097-7>
- Shomita, S., Steiner, M., Sashwati, R., & Sen, C. (2021). Collagen in Wound Healing. *Bioengineering*, 8(5). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/bioengineering8050063>

- Shpichk, A., Butnaru, D., Bezrukov, R., Atala, A., & Burdukovskii, V. (2019). Skin tissue regeneration for burn injury. *Shpichka et Al. Stem Cell Research & Therapy*, 0(0), 1–16.
- Sidhu, P., Kumar, S., Vyas, R., & Singh, P. (2020). Recent Advances in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *BIOMEDICAL*. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2020.26.004312>
- Singer, A., & Boycw, S. (2018). Burn Wound Healing and Tissue Engineering. *HHS Public Acces*, 38, 605–6013. <https://doi.org/10.1097/BCR.0000000000000538>
- Snyder, D., & Sullivan, N. (2020). Skin Substitutes for Treating Chronic Wounds. *Agency for Healthcare Research and Quality*.
- Sparavigna, A. (2020). Role of the extracellular matrix in skin aging and dedicated treatment. *Plast Aesthet Res*, 7, 14. <https://doi.org/10.20517/2347-9264.2019.73>
- Supp, D., Hahn, J., Lloyd, C., & Combs, K. (2020). Light or Dark Pigmentation of Engineered Skin Substitutes Containing Melanocytes Protects Against Ultraviolet Light-Induced DNA Damage In Vivo. *J Burn Care Res*, 3(41), 751–760. <https://doi.org/10.1093/jbcr/iraa029>
- Tavakoli, S., & Klar, A. (2021). Bioengineered Skin Substitutes: Advances and Future Trends. *Applied Sciences*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/app11041493>
- Than, U., Leavesley, D., & Parker, T. (2019). Characteristics and roles of extracellular vesicles released by epidermal keratinocytes. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2264–2272. <https://doi.org/10.1111/jdv.15859>
- Tucic, M., Stamenkovic, V., & Andjus, P. (2021). The Extracellular Matrix Glycoprotein Tenascin C and Adult Neurogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fcell.2021.674199>
- Uppal, S., Garg, R., & Gupta, A. (2020). Global Tissue Engineered Skin Substitutes Market – Industry Trends and Forecast to 2027. *DataBridge*.
- Urciuolo, F., Casale, C., & Netti, P. (2019). Bioengineered Skin Substitutes: The Role of

- Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *Cutting Edge Preclinical Models in Translational Medicine*, 8. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/jcm8122083>
- Varkey, M., Ding, J., & Tredget, E. (2015). Advances in Skin Substitutes—Potential of Tissue Engineered Skin for Facilitating Anti-Fibrotic Healing. *Journal of Functional Biomaterials*, 6, 547–563. <https://doi.org/10.3390/jfb6030547>
- Vig, K., Chaudhari, A., & Tripathi, S. (2017). *Advances in Skin Regeneration Using Tissue Engineering*. 18(4). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms18040789>
- Vyas, K., & Vasconez, H. (2014). Wound Healing: Biologics, Skin Substitutes, Biomembranes and Scaffolds. *Healthcare*, 10, 356–400. <https://doi.org/10.3390/healthcare2030356>
- Walimbe, T., & Panitch, A. (2020). Proteoglycans in Biomedicine: Resurgence of an Underexploited Class of ECM Molecules. *Pharmacol.* <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01661>
- Wang, Y., Pei, S., Rao, N., Zhan, F., & Yeh, M. (2017). Self-Assembled Peptide-Based Hydrogels as Scaffolds for Proliferation and Multi-Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Macromol Biosci* . <https://doi.org/10.1002/mabi.201600192>
- Wei, C., Le See, J., & Yang, S.-H. (2021). Early Experience with Biobranetm for Definitive Coverage of Tangentially Excised Partial-Thickness Thermal Burns. *World Journal Of Plastic Surgery*, 10, 119–124. <https://doi.org/10.29252/wjps.10.1.119>
- Weiwei, L., Wanling, L., Zhao, D., & Wang, Y. (2020). Aligned 3D porous polyurethane scaffolds for biological anisotropic tissue regeneration. *Regenerative Biomaterials*, 7(1), 19–27. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/rb/rbz031>
- Weng, T., Zhang, W., & Xia, Y. (2021). 3D bioprinting for skin tissue engineering: Current status and perspectives. *Tissue Engineering*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1177/20417314211028574>

- Willerth, S., Elbert, S., & Shelly, E. (2019). Combining Stem Cells and Biomaterial Scaffolds for Constructing Tissues and Cell Delivery. *StemJournal*, 1(1), 1–25. <https://doi.org/10.3233/STJ-180001>
- Yano, K., Watanabe, N., Tsuyuki, K., & Masayuki, Y. (2016). Regulatory approval for autologous human cells and tissue products in the United States, the European Union, and Japan. *Regenerative Therapy*, 1, 45–56. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.reth.2014.10.001>
- Yin, S. (2017). Chemical and Common Burns in Children. *Clin Pediatr (Phila)*, 8–12. <https://doi.org/10.1177/0009922817706975>
- Yousef, H., Alhaji, M., & Sharma, S. (2021). Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *StatPearls*.
- Zhang, Q., Wen, J., & Wu, X. (2020). Early-stage bilayer tissue-engineered skin substitute formed by adult skin progenitor cells produces an improved skin structure in vivo. *Stem Cell Research & Therapy*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13287-020-01924-z>
- Zhang, T., Qianwei, X., Yuxi, S., & Zhang, F. (2021). Porous Silk Scaffold Derived from Formic Acid: Characterization and Biocompatibility. *Advances in Materials Science and Engineering*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2021/3245587>
- Zhang, X., Shu, W., Yu, Q., Qu, W., Wang, Y., & Li, R. (2020). Functional Biomaterials for Treatment of Chronic Wound. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00516>
- ZHAO, P., Gu, H., Mi, H., & Rao, C. (2017). Fabrication of scaffolds in tissue engineering: A review. *Higher Education Press and Springer-Verlag GmbH Germany*. <https://doi.org/10.1007/s11465-018-0496-8>
- Zheng, Y., Lin, G., & Zhan, R. (2019). Epidemiological analysis of 9,779 burn patients in China: An eight-year retrospective study at a major burn center in southwest China. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2847–2854.

<https://doi.org/https://doi.org/10.3892/etm.2019.7240>

Zorzella, C., Rodrigues, P., Cruz, F., & Justulin, L. (2020). Highly Effective Fibrin Biopolymer Scaffold for Stem Cells Upgrading Bone Regeneration. *Materials (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/ma13122747>