



Trabajo Fin de Grado
Grado en Medicina

Estado actual del desarrollo de equivalentes dermoepidérmicos en el tratamiento de grandes quemados

Autor:
Manuel Nogueira Sixto
Director:
Ignacio García-Alonso Montoya



GRALaren ZUZENDARIAREN AMAIERAKO TXOSTENA
INFORME FINAL DEL DIRECTOR DEL TFG

**Estado actual del desarrollo de
equivalentes dermoepidérmicos en el
tratamiento de grandes quemados**

Egilea/Autor:

Manuel Nogueira Sixto

Zuzendaria/Director:

Ignacio García-Alonso Montoya

Kalifikazioa/ Calificación:

Zenbakiaz/ En número (0-10)	10
Letraz/ En letra	Diez

Zuzendariaren Oharrak eta balorazioak /

Consideraciones y valoraciones del Director:

Ha realizado el estudio con gran profundidad, siguiendo adecuadamente las indicaciones recibidas y proponiendo alternativas con un grado de iniciativa adecuado a su formación. Ha demostrado un alto grado de comprensión de la materia objeto de estudio, constatado durante las sesiones de dirección mantenidas.

Lekua eta data / Lugar y fecha: En Leioa, a diecisiete de marzo de 2017

Firmado/zenpea:  Ignacio García-Alonso Montoya
GRALeko zuzendaria / Director del TFG

GRADU AMAIERAKO LANA / TRABAJO FIN DE GRADO

UPV/EHUren GORDAILU DIGITALEAN (ADDIn) ARGITARATZEKO BAIMENA AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UPV/EHU (ADDI)

GRALaren izenburua / Título del TFG:

1. IKASLEA / ALUMNO

<u>Izen-abizenak/Nombre Apellidos</u>	<u>NAN/DNI</u>
<u>Gradua/Grado</u>	<u>Ikasturtea/Curso Académico</u>

2. GRALaren ZUZENDARIA / DIRECTOR DEL TFG

Izen-abizenak/Nombre Apellidos

Saila/Departamento

Behean sinatzen dutenak: / Los abajo firmantes:

EZ DUTE BAIMENIK EMATEN / NO AUTORIZAN

BAIMENA EMATEN DUTE/ AUTORIZAN

GRAL hau Unibertsitatearen Erakunde-biltegiaren (ADDIn) gordetzeko, **LIBREKI KONTSULTATU** ahal izateko, **honako modalitate honetan:** / El depósito de este TFG en el Repositorio Institucional de la Universidad (ADDI) para ser consultado en **ACCESO ABIERTO, en la modalidad siguiente:**

Oharra: Zentroak ezarritako gutxieneko nota gairiditu duten GRALak argitaratuko dira soilik.
 Nota: Solo se publicarán los TFG que hayan superado la nota de corte establecida por el Centro.

(adierazi X batekin zer modalitate aukeratu duzun/ marca con una X la modalidad elegida)

1	<input type="checkbox"/>	© Eskubide guztiak gordeta/ Con todos los derechos reservados
2	<input type="checkbox"/>	Creative Commons lizentzia honekin / Con la licencia Creative Commons
		<input type="checkbox"/> Aitortu /Reconocimiento (cc by)
		<input type="checkbox"/> Aitortu – PartekatuBerdin /Reconocimiento – CompartirIgual (cc by-sa)
		<input type="checkbox"/> Aitortu – LanEratorririkGabe /Reconocimiento-SinObraDerivada (cc by-nd)
		<input type="checkbox"/> Aitortu – EzKomertziala / Reconocimiento-NoComercial (cc by-nc)
		<input type="checkbox"/> Aitortu – EzKomertziala – PartekatuBerdin /Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual (cc by-nc-sa)
		<input type="checkbox"/> Aitortu – EzKomertziala – LanEratorririkGabe /Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada (cc by-nc-nd)
Informazio gehiago/ Mas información: http://es.creativecommons.org/blog/licencias/		

Leioan,(ko)arena / En Leioa, a de de

Ikaslea/ Estudiante  Stua./ Fdo. Manuel Nogueira Sixto	GRALaren Zuzendaria / Director del TFG  Stua./ Fdo. Ignacio García-Alonso Montoya
---	---

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. CLASIFICACIÓN DE LAS QUEMADURAS.....	1
1.1.1. Quemaduras epidérmicas (superficiales)	1
1.1.2. Quemaduras dérmicas superficiales (de espesor parcial)	1
1.1.3. Quemaduras dérmicas profundas	2
1.1.4. Quemaduras de espesor completo	2
1.1. RESPUESTA FISIOPATOLÓGICA EN QUEMADURAS PROFUNDAS.....	2
1.2. CLASIFICACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE LA LESIÓN	3
1.2.1. Área central o de coagulación	3
1.2.2. Área de estasis o de isquemia.....	3
1.2.3. Área de hiperemia	3
1.4. EVOLUCIÓN HISTÓRICA	3
1.5. PROCESO DE CURACIÓN DE LAS HERIDAS	4
1.5.1. Inflamación.....	4
1.5.2. Proliferación	4
1.5.3. Cicatrización	5
1.5.4. Metabolismo.....	5
1.6. ATENCIÓN DE LOS QUEMADOS Y NECESIDAD DE EQUIVALENTES DERMOEPIDÉRMICOS	6
1.6.1. Manejo general	6
1.6.2. Quemaduras epidérmicas o superficiales.....	7
1.6.3. Quemaduras dérmicas (superficiales y profundas) y de espesor completo que afectan a pequeñas o medianas superficies.....	7
1.6.4. Quemaduras de espesor completo de grandes superficies.....	8
1.6.4.1. Trasplantes temporales alogénicos o heterogénicos	8
1.6.4.2. Tissue-engineered skin substitutes	8
1.7. ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DE LA PIEL	9
1.7.1. Epidermis	9
1.7.2. Dermis.....	10
1.7.3. Matriz extracelular (ECM) y unión dermoepidérmica.....	10
1.7.4. Hipodermis.....	11
1.7.5. Anejos cutáneos.....	11
2. MATERIAL Y MÉTODOS	12
2.1. PROCESO DE REVISIÓN	12
2.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA	12

2.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN	13
3. RESULTADOS - ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN	14
3.1. EQUIVALENTES EPIDÉRMICOS.....	15
3.1.1. <i>Obtención y procesamiento</i>	16
3.1.2. <i>Cultivos subconfluentes</i>	18
3.2. EQUIVALENTES DÉRMICOS.....	19
3.3. EQUIVALENTES DERMOEPIDÉRMICOS	20
3.3.1. <i>Células utilizadas</i>	20
3.3.2. <i>Mecanismo de acción</i>	20
3.3.3. <i>Tolerancia</i>	20
3.3.4. <i>Conclusión</i>	21
3.4. SOPORTES TRIDIMENSIONALES (SCAFFOLDS)	22
3.4.1. <i>Características ideales</i>	22
3.4.2. <i>Biopolímeros naturales</i>	23
3.4.2.1. Colágeno	24
3.4.2.2. Elastina	24
3.4.2.3. Fibrilina.....	24
3.4.2.4. Fibulina	24
3.4.2.5. Laminina	25
3.4.2.6. Fibronectina	25
3.4.2.7. Tenascina	25
3.4.2.8. Trombospondina	25
3.4.2.9. Integrina	26
3.4.2.10. Glicosaminoglicanos.....	26
3.4.2.11. <i>Conclusión</i>	26
3.4.3. <i>Biopolímeros sintéticos</i>	27
3.4.4. <i>Scaffolds derivados de tejidos u órganos</i>	27
3.4.4.1. Biodegradación	28
3.4.4.2. Inmunogenicidad.....	28
3.4.4.3. Decelularización	29
3.4.4.4. Esterilización	31
3.5. IMPRESIÓN 3D DE TEJIDOS	31
3.5.1. <i>Toma de imágenes</i>	32
3.5.2. <i>Diseño</i>	32
3.5.3. <i>Selección de materiales</i>	32
3.5.4. Selección celular.....	32
3.5.5. <i>Bioimpresión</i>	33
3.5.6. Aplicación	34

3.6. PREPARACIONES DISPONIBLES EN LA CLÍNICA	34
3.6.1. <i>Sustitutos temporales de la piel</i>	34
3.6.1.1. Acelulares.....	34
3.6.1.2. Celulares.....	34
3.6.2. <i>Sustitutos permanentes de la piel</i>	35
3.6.2.1. Acelulares.....	35
3.6.2.2 Celulares.....	36
BIBLIOGRAFIA	36
ANEXO 1 – TABLAS RESUMEN	39

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo del grado se nos ha transmitido que existe la posibilidad de utilizar sustitutos o equivalentes dermoepidérmicos para el tratamiento de los grandes quemados, pues en otro tipo de quemaduras se obtienen resultados adecuados con el manejo habitual de las quemaduras y además su coste es demasiado alto para poder ser aplicado en todos los casos de quemadura. Tras una mínima revisión bibliográfica en los libros de referencia¹⁻³ he podido saber que se trata de un campo en permanente evolución y que arroja resultados prometedores. No obstante, sus indicaciones son todavía muy limitadas dado su elevado coste y la escasa experiencia. Es por ello que me dispongo a realizar una revisión bibliográfica extensa del tema para agrupar los diferentes tipos de equivalentes dermoepidérmicos, las diferentes técnicas desarrolladas para su aplicación así como conocer cuáles son los resultados que arrojan los últimos estudios y los avances realizados en el campo.

1.1. CLASIFICACIÓN DE LAS QUEMADURAS

Para poder profundizar en la materia que nos ocupa debemos primero definir o establecer una clasificación de las quemaduras que nos facilite concretar el tratamiento que cada una de ellas va a recibir de acuerdo con la evidencia actual. La clasificación basada en la fisiopatología de la quemadura es la que sigue:

1.1.1. Quemaduras epidérmicas (superficiales)

Estas quemaduras se caracterizan por presentar eritema y leve dolor. La piel se regenera rápido y sin dejar cicatriz, es por ello que no requieren tratamiento quirúrgico^{3,4}.

1.1.2. Quemaduras dérmicas superficiales (de espesor parcial)

En este tipo de quemaduras se ve afectada la totalidad de la epidermis y la parte más superficial de la dermis, dando lugar a la aparición de ampollas y dolor severo. La reparación se realiza mediante epitelización a partir de los márgenes de la herida (los queratinocitos basales se convertirán en células migratorias que proliferarán y acabarán por cubrir el área dañada) y de los anejos cutáneos que

persisten en la profundidad de la dermis (especialmente a partir de stem cells presentes en el bulbo de los folículos pilosos capaces de contribuir a la reepitelización de la herida)^{3,4}.

Todos estos procesos determinan una rápida curación y cicatrización de la herida que no suele conllevar grandes secuelas estéticas ni funcionales.

1.1.3. Quemaduras dérmicas profundas

En este caso la epidermis se encuentra afectada en su totalidad y la afectación de la dermis es mayor que en las quemaduras superficiales de espesor parcial. Por ello, el número de anejos cutáneos disponibles para la reepitelización de la herida son menores y tienen lugar procesos de fibroplasia importantes. Esto determina un período de curación de la herida más largo con secuelas más graves tanto estéticas como funcionales^{3,4}.

1.1.4. Quemaduras de espesor completo

En este caso tiene lugar una destrucción completa de los elementos regenerativos de la herida. Es por ello que el cierre solo puede darse a partir de la contracción de la herida y a partir de sus márgenes. Esto determina una cicatrización muy dilatada en el tiempo, junto a la aparición de importantes secuelas estéticas y funcionales. Además, podemos adelantar que todas las heridas que entren dentro de este grupo y posean un diámetro mayor de 1 cm requerirán la aplicación pronta de un injerto de piel^{3,4}.

1.1. RESPUESTA FISIOPATOLÓGICA EN QUEMADURAS PROFUNDAS

En cuanto a otros procesos fisiopatológicos que tienen lugar podemos decir que el Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) aparece en la mayoría de los pacientes que poseen una superficie corporal quemada igual o mayor al 20% que hace necesaria la toma de medidas de resucitación con aporte de líquidos¹. Tras este proceso inicial el paciente entrará en un ciclo hipermetabólico y de inflamación crónica que se acompaña de pérdida de peso. La magnitud del SRIS y del estado hipermetabólico está relacionada con la extensión de la quemadura; de esta forma, a mayor extensión, mayor será la intensidad de ambos procesos^{1,4,5}.

1.2. CLASIFICACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE LA LESIÓN

A continuación presentamos otra clasificación que, junto con la clasificación fisiopatológica de las quemaduras, nos permite determinar el tratamiento final a aplicar. Esta clasificación, descrita por Rowan et al. aportada por Rowan et al.⁵, divide la herida en áreas según el daño sufrido que podrían definirse de manera grosera como círculos concéntricos. De esta forma encontramos:

1.2.1. Área central o de coagulación

Es la zona que mayor daño sufre y la que es expuesta a mayores temperaturas. En esta área tiene lugar una importante desnaturalización de proteínas, destrucción celular y coagulación que llevan a un estado de necrosis.

1.2.2. Área de estasis o de isquemia

Esta zona rodea al área de coagulación, y se caracteriza por un descenso de perfusión. El tejido del área de estasis es potencialmente salvable siempre y cuando actuemos en menos de 24 o 48 horas, ya que, pasado ese período de tiempo, la hipoxia y la isquemia producen la necrosis del tejido.

1.2.3. Área de hiperemia

Esta área rodea al área de isquemia y es la más alejada del área central o de coagulación. En esta zona y a causa de los procesos inflamatorios que desencadena la agresión térmica encontramos vasodilatación y, por tanto, un incremento del aporte sanguíneo. Esta área probablemente se recuperará sin necesidad de ningún tipo de intervención.

1.4. EVOLUCIÓN HISTÓRICA

Gracias a los avances introducidos en el manejo de los quemados podemos devolver la salud a pacientes que hace 50 años habrían fallecido con total seguridad. De acuerdo con Bull & Fisher (1954) entre 1942 y 1952 la mortalidad de pacientes con quemaduras del 60% y edades comprendidas entre los 15 y los 44 años era del 100%. En cambio, un estudio que tuvo lugar entre 1998 y 2003 estableció que la mortalidad de un grupo de pacientes con las mismas características era de solamente el 41.4%. Este enorme descenso en la mortalidad se debe a la mejora en el tratamiento de los grandes quemados gracias al avance

experimentado en anestesia, ventilación asistida o mecánica, resucitación, nutrición parenteral de pacientes quemados, tratamiento médico y coberturas temporales de quemaduras; así como la creación de unidades especializadas de quemados³. A pesar de todo ello, el tratamiento de los pacientes que sufren quemaduras de espesor total que afectan a grandes superficies corporales sigue siendo un reto.

1.5. PROCESO DE CURACIÓN DE LAS HERIDAS

Para poder determinar el correcto manejo de las quemaduras es necesario conocer cuál es el proceso habitual de curación de estas heridas. Se trata de un proceso dinámico en el que confluyen y se solapan diferentes fases^{4,5}:

1.5.1. Inflamación

La primera de estas fases es la inflamatoria⁵. En ella llegan a la herida neutrófilos y monocitos gracias a la liberación de mediadores inflamatorios (citocinas, quininas y lípidos entre otros) y a procesos de vasodilatación y extravasación de líquidos que provocan la aparición de un edema fisiológico⁵. Las células mencionadas facilitan la respuesta inmune frente a posibles infecciones, degradan el tejido necrótico presente y dan comienzo a aquellas rutas celulares necesarias para la generación de nuevas citocinas y factores de crecimiento que, a su vez, son necesarios para la puesta en marcha de la siguiente fase⁵. Por otra parte, no es raro que durante esta fase pueda alterarse alguno de los procesos descritos⁴. De esta forma, si los procesos de inflamación y edema fueran excesivos podría prolongarse el tiempo de curación, incrementar el dolor e impedir el progreso normal de cicatrización; o bien, si tuvieran lugar vías inflamatorias aberrantes la cicatriz resultante podría ser patológica (cicatriz hipertrófica)⁴.

1.5.2. Proliferación

La siguiente fase, llamada proliferativa, se solapa con la anterior⁵. Se caracteriza por la activación de algunos tipos celulares (fibroblastos y queratinocitos) y por la proliferación de otros (células epiteliales, células basales de anejos cutáneos si persistieran y células de los márgenes de la herida)⁵. Los queratinocitos migran hacia el centro de la herida para ayudar al cierre de la misma y para crear una nueva red vascular. Es esta red vascular la que posibilita la comunicación entre el

estroma, el endotelio que se está generando y las células inmunes, por lo que determina el curso de la siguiente fase, la fase de cicatrización⁵.

1.5.3. Cicatrización

La fase de cicatrización ocurre simultáneamente a la de proliferación y después de que esta tenga fin, e incluye la remodelación de la cicatriz⁵. En esta fase, la cicatriz va madurando conforme el colágeno y la elastina se van depositando y reorganizando de acuerdo con las líneas de fuerza y tensión a las que la herida está sometida, además, parte de los fibroblastos (que se habían multiplicado en la fase proliferativa) entrarán en apoptosis, mientras que otros se transformarán en miofibroblastos con fenotipo contráctil⁵. El porcentaje de fibroblastos que se transformen acabarán determinando el delicado equilibrio que existe entre los procesos de reepitelización y contracción de la herida⁵. Además de lo comentado, en esta fase también son determinantes para el resultado final la apoptosis de queratinocitos y de células inflamatorias⁴. Estas fases de la curación se han resumido en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Fases de la curación de las heridas y sus efectores principales tomado de Rowan et al.⁵

Fase	Características	Efectores principales
Inflamatoria	Vasodilatación	Monocitos
	Extravasación de fluidos	Neutrófilos
	Edema	Macrófagos
Proliferativa	Cierre de la herida	Queratinocitos
	Revascularización	Fibroblastos
Cicatrización o remodelamiento	Maduración de la herida	Colágeno
	Cicatrización	Elastina
		Fibroblastos/miofibroblastos

1.5.4. Metabolismo

Estas tres fases, junto con el intenso dolor que experimenta el paciente inducen en él, como ya hemos mencionado anteriormente, un estado hipermetabólico^{4, 5}. Este tiene su origen en las exigencias energéticas de la curación y en el estrés que induce el dolor⁴. Ambos determinan una elevación hormonal generalizada que

termina por inducir dicho estado y que termina en una pérdida ponderal y de masa muscular⁵.

1.6. ATENCIÓN DE LOS QUEMADOS Y NECESIDAD DE EQUIVALENTES DERMOEPIDÉRMICOS

En este punto trataremos de resumir el manejo general de las quemaduras y el tratamiento local más aceptado para cada quemadura en función de su gravedad. De esta forma se podrán plantear aquellas situaciones en las que los sustitutos dermoepidérmicos pueden ser necesarios al tener limitaciones el resto de técnicas y tratamientos disponibles hoy en día.

1.6.1. Manejo general

El tratamiento de las quemaduras es muy complejo. Mientras que las quemaduras leves pueden ser atendidas en la comunidad por parte de médicos con experiencia, las moderadas y graves precisan ser tratadas en centros específicos que cuenten con unidades de quemados¹. En este punto abordaremos el manejo general del tratamiento médico y en los siguientes ahondaremos en el tratamiento quirúrgico específico de cada quemadura.

Entre las medidas que deben establecerse ante un paciente con quemaduras moderadas o graves encontramos: La instauración rápida y adecuada de reanimación con líquidos (previene el fracaso multiorgánico)^{1, 4}; la aplicación de antibióticos tópicos de manera temprana junto con otras medidas locales quirúrgicas que se explicarán en los siguientes puntos (útiles a la hora de controlar la sepsis)^{1, 4, 5}; utilización de esteroides a dosis bajas (evitan una respuesta inflamatoria excesiva y disminuyen el dolor y el tiempo de hospitalización⁴; y, por último, la aplicación de una sonda enteral precoz (controla la aparición de úlceras de estrés, mantiene la integridad de la mucosa intestinal y aportar sustratos para el estado hipermetabólico)^{1, 4}, en caso de imposibilidad de aplicación de la sonda se aconseja iniciar nutrición parenteral adecuada y adaptada al estado hipermetabólico en el que se encuentra el paciente.

El estado hipermetabólico que la quemadura induce es el punto más conflictivo del tratamiento y continúa siendo un reto. La estrategia más utilizada para tratar de frenar este estado hoy en día es la utilización de bloqueantes β -adrenérgicos

(propranolol)^{1,4}. Otras estrategias farmacológicas que han demostrado ser útiles en este sentido es la utilización de GH (hormona de crecimiento), IGF (factor de crecimiento insulínico) y oxandrolona¹. Por último, ha sido demostrado que mantener unos niveles de glucosa inferiores a 110mg/dl reduce considerablemente la morbimortalidad en estos pacientes y modula y controla en gran medida el estado hipermetabólico del paciente; no obstante, la asociación de la insulina con la aparición de efectos adversos, especialmente cuadros hipoglucémicos, ha provocado que actualmente se esté investigando la utilización de otros fármacos hipoglucemiantes¹.

1.6.2. Quemaduras epidérmicas o superficiales

No requieren tratamiento quirúrgico local específico⁴.

1.6.3. Quemaduras dérmicas (superficiales y profundas) y de espesor completo que afectan a pequeñas o medianas superficies

Se debe realizar escisión temprana de la escara (en caso de que exista) para poder eliminar todo el tejido necrótico que constituye un caldo de cultivo ideal para la proliferación bacteriana y que favorece la aparición de una respuesta inflamatoria sistémica descontrolada, es decir, un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS)^{1,4}. En las heridas de espesor parcial se trata de conservar la dermis viable, en cambio, en las quemaduras de espesor completo debe eliminarse todo tejido necrótico y/o infectado, dejando un lecho viable de fascia, músculo o grasa^{1,4}. La escisión, en resumen, previene la aparición de un fallo multiorgánico (FMO) al evitar el SRIS, de infecciones y de cicatrices hipertróficas^{1,4}. Dado que las quemaduras inducen un estado temporal de inmunosupresión celular y humoral es fundamental la prevención de la infección que constituye una de las principales causas de muerte de estos pacientes^{1,4-7}.

Injerto de piel autóloga: De acuerdo con los últimos estudios^{1,4-7}, en toda herida de espesor completo mayor de 1 cm debe aplicarse este tratamiento, es el gold standard^{1,4}. Se trata de una técnica con la que se obtienen excelentes resultados y con la que existe una amplia experiencia pero con la que se daña parte de la piel no lesionada del paciente. En aquellas circunstancias en las que el porcentaje de piel afectada es importante, entre el 20 y el 40% (este porcentaje varía según la fuente consultada), se utilizan técnicas de mallado en los injertos^{1,4}. Con estas

técnicas es posible aumentar el área cubierta por un mismo injerto (manteniendo intacto un porcentaje mayor de piel) y, por tanto, disminuir la probabilidad de sepsis, el dolor y la mortalidad. No obstante, los resultados estéticos y funcionales son peores que los obtenidos con los autoinjertos tradicionales debido a un aumento de la contracción de la herida, el aumento del tiempo de cicatrización y la disminución de los procesos de epitelización que acaba produciendo cicatrices de morfología característica conocidas como “piel de cocodrilo”⁴. A partir del porcentaje de afectación de piel comentado, el 40%, las técnicas descritas hasta el momento no son suficientes y será necesario un manejo diferente que se explica en el siguiente punto^{1, 4-7}.

1.6.4. Quemaduras de espesor completo de grandes superficies

En este caso las técnicas descritas hasta el momento no son útiles, ya que apenas existen zonas aptas para injerto^{1, 4-7}. En este grupo la mayor parte de autores incluyen aquellas quemaduras de espesor completo que afecten a más de un 30-40% de la superficie corporal^{1, 4-7}. Las alternativas existentes son las siguientes.

1.6.4.1. Trasplantes temporales alogénicos o heterogénicos

Utilización de piel de cadáver donante o de cerdo para obtener una cobertura temporal que aisle al paciente del exterior con la intención de disminuir la deshidratación y de establecer una barrera que dificulte la aparición de sepsis u otros procesos infecciosos^{4, 5}. Como su nombre indica, son temporales y suelen asociar problemas de rechazo.

1.6.4.2. Tissue-engineered skin substitutes

Es en este punto donde se hace patente la necesidad de uso y diseño de biomateriales que nos permitan promover los procesos de reepitelización, disminuir la deshidratación, la probabilidad de sepsis y la contracción de la herida para obtener mejores resultados estéticos y funcionales y, por supuesto, disminuir la mortalidad de estas quemaduras que actualmente es elevada^{1, 4, 6, 7}. Además, estos productos tienen la ventaja de no producir rechazo en el paciente^{4, 7}. Los sustitutos pueden ser clasificados de muchas maneras y cada autor utiliza una u otra clasificación en función de los objetivos planteados en su estudio o revisión. No obstante, de manera general podemos decir que los sustitutos pueden ser

temporales o permanentes, celulares o acelulares e imitar a epidermis, dermis o a ambas⁴. Por todo ello, es imprescindible ahondar en el siguiente punto en la histología normal de la piel.

1.7. ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DE LA PIEL

Antes de continuar con los diferentes tipos existentes y sus características, debemos conocer con precisión la histología normal de la piel, ya que pretendemos crear un producto que se asemeje en la medida de lo posible a ella. La estructura histológica de la piel está formada por epidermis, dermis e hipodermis⁸ (**Figura 1**).

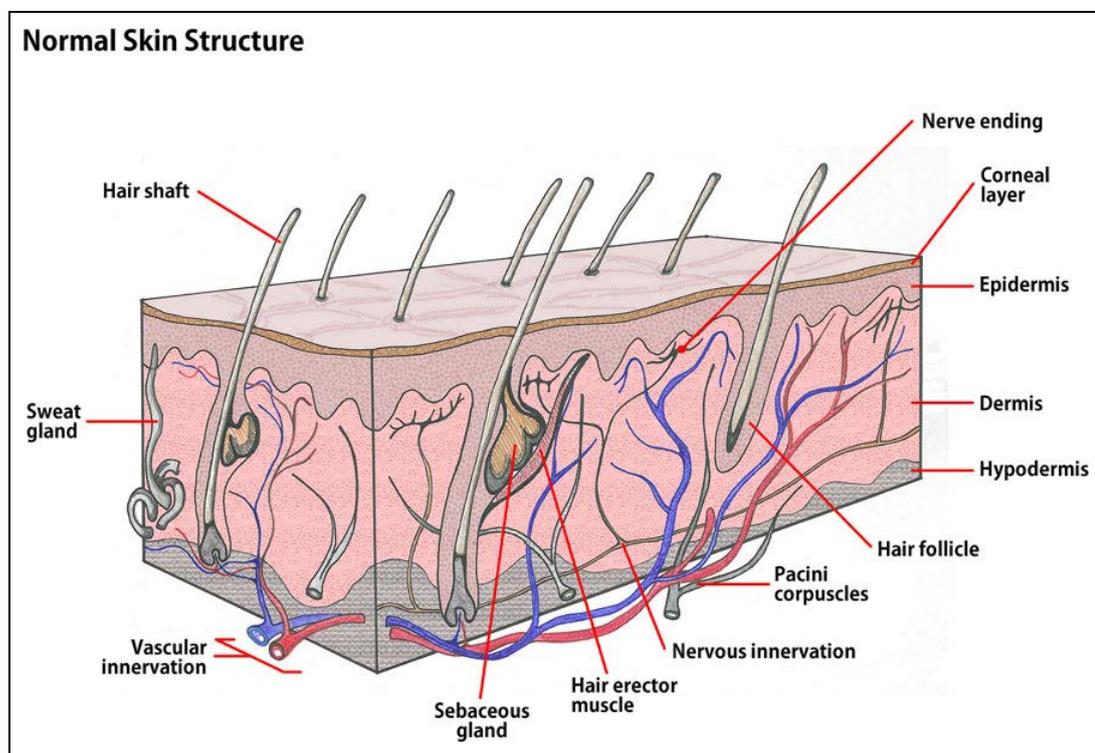


Figura 1. Histología normal de la piel. Tomado de Catalano E et al.⁹.

1.7.1. Epidermis

La piel está formada por cuatro tipos celulares⁸. Los queratinocitos son el componente principal, se distribuyen en cinco capas entre las cuales se distribuirán el resto de tipos celulares⁸. La primera de las capas (la más profunda) está recubierta en su cara inferior por una membrana basal (ver más adelante) a la que se une mediante hemidesmosomas⁸. Los otros tipos celulares que se

entremezclan entre las capas de queratinocitos son los melanocitos (encargados de la producción de melanina que aportan a la segunda capa de queratinocitos), células de Langherhans (que participan en la captación de antígenos y su presentación al sistema inmune) y células de Merkel (mecanorreceptores) ⁸.

1.7.2. Dermis

Esta es una estructura compleja formada principalmente por tejido conjuntivo y que alberga parte de los anejos cutáneos (ver más adelante) y de los receptores sensoriales de la piel⁸. Está dividida en dos capas sin límites bien definidos. La primera y más superficial es la dermis papilar que forma parte de la unión dermoepidérmica (ver más adelante) ⁸. Esta capa está formada por tejido conjuntivo laxo que a su vez está formado por fibroblastos, fibras de colágeno y fibras elásticas finas⁸. La función de esta capa de la dermis es anclar la epidermis y nutrirla⁸.

La segunda capa, más profunda, es la dermis reticular que está constituida por tejido conjuntivo denso irregular que contiene gruesos haces de colágeno y fibras elásticas groseras⁸.

La vascularización de la dermis es compleja. Existen tres redes interconectadas en la piel⁸. De más superficial a más profundo encontramos los plexos subpapilares, el plexo cutáneo y, por último, el plexo subcutáneo⁸. Estos tres sistemas nutren la piel y permiten además importantes funciones corporales como la termorregulación⁸.

1.7.3. Matriz extracelular (ECM) y unión dermoepidérmica

Como podemos ver en la **Figura 2** la ECM es una compleja red de proteínas y polisacáridos producidos por las células que conforman cada órgano o tejido. Incluye el intersticio celular y la membrana basal (fundamental para la unión dermoepidérmica, como veremos a continuación) ⁸. Es uno de los componentes mayoritarios del tejido conectivo y, por ello, de la dermis⁸. A pesar de ello, su presencia en la epidermis es escasa porque las células mantienen un contacto muy estrecho entre sí⁸.

La unión dermoepidérmica es imprescindible para el mantenimiento de la integridad de la piel y de sus funciones⁸. En esta unión interviene la capa basal de

la epidermis y sus hemidesmosomas, la membrana basal y la capa papilar de la dermis⁸.

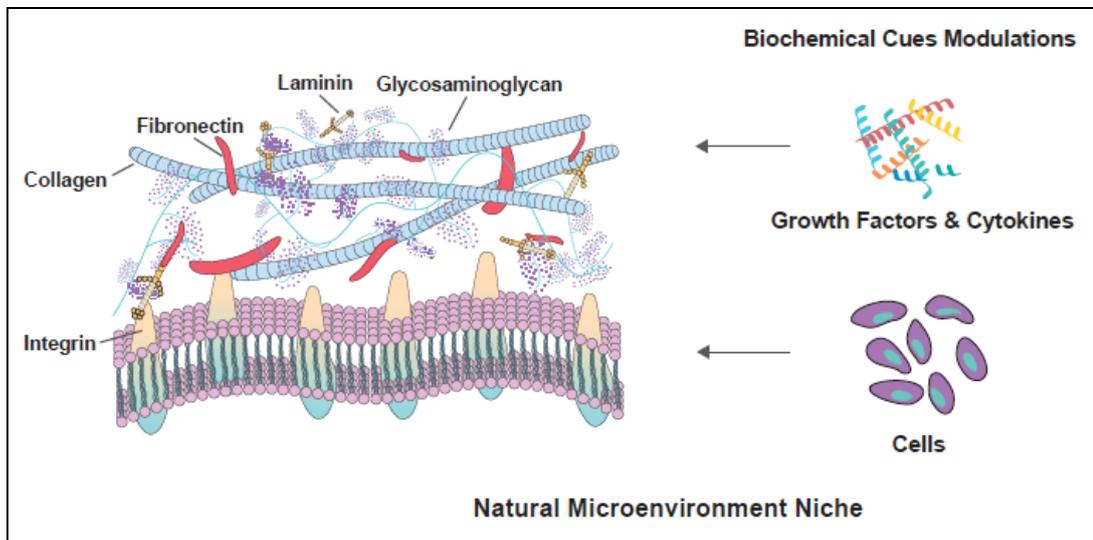


Figura 2. Esquema de la matriz extracelular tomado de Yi S et al.⁷.

La membrana basal se divide en dos estratos, la lámina basal (en contacto con las células de la capa basal y formada por laminina, colágeno IV, entactina y proteoglicanos) y la lámina reticular (que se continúa con el tejido conectivo y se ancla a él; formada por fibras de colágeno)⁸.

Por otra parte, los hemidesmosomas están conformados por varias proteínas entre las cuales destacan las integrinas⁸. Los hemidesmosomas pueden anclarse a la lámina basal gracias a la afinidad e interacción de las integrinas con la laminina, que, como ya hemos dicho, es uno de los componentes esenciales de esta capa de la membrana basal⁸.

1.7.4. Hipodermis

Continuación en profundidad de la capa reticular⁸. Está constituida por tejido conjuntivo laxo y células adiposas; su grosor es variable⁸. Facilita la movilidad de la piel, el aislamiento térmico y almacenamiento de energía metabólica⁸.

1.7.5. Anejos cutáneos

Los principales anejos cutáneos son los folículos pilosos (fundamentales en los procesos de reparación de heridas) y las diferentes glándulas⁸.

El folículo piloso se extiende desde la dermis hasta la superficie de la epidermis. Sin entrar en la histología detallada de esta estructura podemos destacar que uno de sus principales componentes es el bulbo folicular⁸. Las células que lo componen son células madre capaces de regenerar tanto el folículo piloso y su glándula sebácea asociada como la capa basal de queratinocitos de la epidermis. Por ello, ante una herida o quemadura que haya destruido la epidermis por completo y en ausencia de capa basal proliferativa epidérmica, los folículos pilosos y sus bulbos foliculares pueden ser focos de reepitelización eficaces⁸.

Por otra parte, las glándulas que contiene la piel son las glándulas sebáceas y las sudoríparas. Para el tema que nos ocupa no poseen relevancia ya que carecen de capacidad regenerativa y reepitelizante⁸.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. PROCESO DE REVISIÓN

La búsqueda fue realizada por el autor del trabajo en la base de datos de Pubmed y revisada por el tutor.

Para encontrar los términos más adecuados para la realización de una búsqueda selectiva y orientada se utilizaron las herramientas MeSH Browser y Pubmed MeSH Database de la U.S. National Library of Medicine (NIH). Para conocer el factor de impacto de los diferentes artículos consultados se utilizó Web of Science.

Además se consultó bibliografía recomendada por el tutor y citada por los artículos buscados en la base de datos Pubmed.

2.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

En primer lugar se consultaron los libros de referencia recomendados por el autor para asentar la base fisiopatológica y las estrategias y conceptos más ampliamente aceptados.

En segundo lugar se establecieron los términos MeSH de búsqueda adecuados a través de las herramientas ya citadas. Los términos MeSH obtenidos fueron: “*Skin, Artificial*”, “*Tissue Engineering*”, “*Transplants*”, “*Skin transplantation*”

“Tissue Scaffolds”, “Printing, Three-Dimensional”, “Burns” y “therapeutic use” [Subheading].

La búsqueda se realizó en la base de datos mencionada, sin restricciones de lengua, utilizando diferentes combinaciones de los términos que se acaban de indicar y diferentes booleanos. También se emplearon diferentes combinaciones de los siguientes límites de búsqueda: *“Review”, “Full text”, “5 years” y “10 years”*. Las combinaciones usadas fueron:

(“Skin, Artificial”[Mesh] AND “Burns” [Mesh]) con los límites *“Review” y “5 years”*.

(“Skin, Artificial”[Mesh] AND “Tissue Engineering”[Mesh] AND “Skin Transplantation”[Mesh]) con los límites *“Review”, “Full text” y “10 years”*.

(“Skin, Artificial”[Mesh] AND “Tissue Engineering”[Mesh] AND “Transplants”[Mesh]) con los límites *“Full text” y “5 years”*.

(“Skin” [Mesh]) AND “Printing, Three-Dimensional”[Mesh]) con los límites *“Full text” y “5 years”*.

(“Skin, Artificial”[Mesh] AND “Tissue Engineering”[Mesh] AND “Tissue Scaffolds”[Mesh]) con los límites *“Review”, “Full text” y “10 years”*

Finalmente se procedió a la búsqueda de artículos recomendados por el tutor y de algunos de los artículos de referencia citados en los artículos buscados en el segundo paso.

2.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN

En primer lugar, y mediante la lectura del abstract de cada artículo, se seleccionaron aquellos que demostraban tener relación con el tema en revisión. Posteriormente se hizo un segundo cribado entre estos artículos de acuerdo con su factor de impacto y las veces que fue citado. Además, en un primer momento, se trató de seleccionar aquellos artículos que aportaban una visión más general e integradora del tema para poder asentar y comprender sus conceptos básicos y fundamentales. En un segundo momento, se trató de elegir artículos especializados en distintos aspectos del trabajo (p.ej. diseño de scaffolds, impresión 3D o biopolímeros entre otros) para poder profundizar y realizar una revisión completa, profunda y realmente actualizada.

3. RESULTADOS - ESTADO ACTUAL DE LA CUESTIÓN

Como se ha comentado, las técnicas tradicionales tienen importantes limitaciones en el manejo de los pacientes con quemaduras dérmicas (superficiales y profundas) y de espesor completo que afectan al 40% o más de la piel^{1, 4-7}. Por ello, en cuanto las técnicas de cultivo celular se consolidaron, se intentaron elaborar protocolos que posibilitasen la multiplicación rápida y eficaz de células epiteliales; primero alogénicas y más tarde autólogas. Inicialmente se buscaba poder sembrar la superficie desprovista de piel con células dispersas, para que cada una de ellas actuara como foco de epitelización^{4, 5}. Más tarde el objetivo fue obtener una epidermis sintética con la que cubrir la quemadura^{4, 5}.

Pronto se comprobó que la viabilidad de estas células se veía comprometida cuando se aplicaban sobre el lecho cruento de quemaduras al tratarse de un medio hostil^{4, 5}. Para superar este obstáculo se han intentado crear diferentes matrices artificiales o scaffolds sobre las que poder sembrar células autólogas o alogénicas y que promuevan y faciliten la proliferación de las mismas^{4, 5}. De esta manera se ha llegado a lo que ahora conocemos como sustitutos cutáneos, piel sintética o equivalentes dermoepidérmicos⁴. Las características ideales de los sustitutos o equivalentes son las que vemos en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Características ideales de los sustitutos o equivalentes dermoepidérmicos tomado de Sevchenko R.V. et al.⁴ y Catalano E et al.⁹

Seguridad	Propiedades fisicoquímicas	Resultados
No tóxico No inmunogénico Que no cause excesiva inflamación Riesgo de transmisión de enfermedades mínimo	Biodegradable Duradero y estable a largo plazo Resistencia a las fuerzas de tracción Porosidad adecuada Flexibilidad y grosor adecuados Aplicable sobre superficies irregulares	Reducción del dolor Capaz de promover la reconstrucción del tejido normal Química y físicamente similares a la piel que sustituye Que evite la pérdida de fluidos y la deshidratación Que proteja de la infección De fácil obtención, transporte y manejo Coste-efectivo

Conceptualmente hablando, y como se acaba de insinuar; hoy en día en los sustitutos hay dos componentes fundamentales de los que hemos de ocuparnos y que dan lugar a multitud de variantes: la estructura tridimensional, matriz artificial o scaffold y el componente celular, si existe. Las diferentes combinaciones de estos dos elementos dan lugar a compuestos con propiedades muy diferentes entre sí.

De acuerdo con sus características y sus componentes podemos clasificar los sustitutos de la siguiente manera:

- Equivalentes epidérmicos: sustitutos que tratan de imitar la composición química y/o celular y la estructura tridimensional de la epidermis para promover la reepitelización y la cicatrización^{4,5}.
- Equivalentes dérmicos: sustitutos que tratan de imitar la composición química y/o celular y la estructura de la dermis para mejorar las condiciones del lecho de la herida y protegerlo^{4,5}.
- Equivalentes dermoepidérmicos: sustitutos que incluyen las características y finalidades de los dos anteriores^{4,5}.
- Soportes tridimensionales (scaffolds): estructuras tridimensionales que tratan de imitar las propiedades fisicoquímicas de la ECM para proteger el lecho de la herida y/o para promover el crecimiento de las propias células del paciente o de células incluidas artificialmente en ellos. Pueden formar parte de cualquiera de los tres tipos de sustitutos anteriores^{7, 10-13}.
- Impresión 3D de tejidos: Técnica novedosa y en rápido crecimiento mediante la cual se pueden obtener scaffolds o cualquiera de los tipos de equivalentes mencionados^{10, 11}.

En los párrafos que siguen vamos a ir describiendo las características cada uno de estos sustitutos así como de los scaffolds, y el estado actual de la técnica de preparación de los mismos.

3.1. EQUIVALENTES EPIDÉRMICOS

Estos se trasladaron inmediatamente a la clínica una vez que se comprobó que era posible expandir queratinocitos autólogos ex vivo en un período de tiempo corto⁴. La utilidad de estos equivalentes aún es tema de controversia. Existen diferentes

equivalentes de acuerdo con el método de obtención utilizado, su manejo y su aplicación^{4-6, 9, 11, 14}.

3.1.1. Obtención y procesamiento

El procedimiento general para obtener estos equivalentes es semejante al que se explicará a continuación, y que ya fue descrito por Rowan et al.⁴; se puede dividir en los pasos que ahora veremos.

Para la obtención de Stratified Cultured Epithelial Autografts (CEAs), que son los equivalentes con los que se abrió este campo, debemos extraer una biopsia de piel de unos 2 a 5 cm cuadrados^{4, 14}. Esto se realiza simultáneamente al desbridamiento de la herida, cuando el paciente acude a la urgencia⁴. A continuación, la epidermis es separada de la dermis y mediante reacciones enzimáticas se obtienen los queratinocitos individuales que son sembrados en cultivos donde comenzarán a dividirse y a formar colonias o monoláminas (los cultivos celulares en los que se realiza el sembrado son generalmente de origen xenogénico pues están enriquecidos con fibroblastos inactivados de ratón, suero fetal de ternera y con otros suplementos necesarios; también existe la posibilidad de reproducir estos queratinocitos en medios no xenogénicos, no obstante, tienen una vida media considerablemente menor)^{4, 5, 9}. Por último, las monoláminas de queratinocitos se fusionarán para acabar formando láminas epiteliales estratificadas que podrán ser separadas de sus recipientes mediante técnicas y procesos enzimáticos⁴. Para mantener la orientación basal-apical de las láminas se aplican en soportes como gasas baselinadas para, posteriormente, aplicarlos sobre la herida^{4, 6}. Este proceso se ha esquematizado en la **Figura 3**.

El tipo de subpoblación celular utilizado en estos equivalentes determina el tiempo que son viables⁴. Existen tres poblaciones diferentes de queratinocitos comprendidas en la epidermis pero solo una tiene potencial replicativo suficiente para la obtención de un equivalente. Estas poblaciones son:

- Holoclones: células madre símil, con potencial para formar colonias⁴.
- Meroclones: células de tránsito amplificadas cuyo proceso de diferenciación ya se ha iniciado, por tanto, se trata de células comprometidas⁴.
- Paraclones: células finalmente diferenciadas⁴.

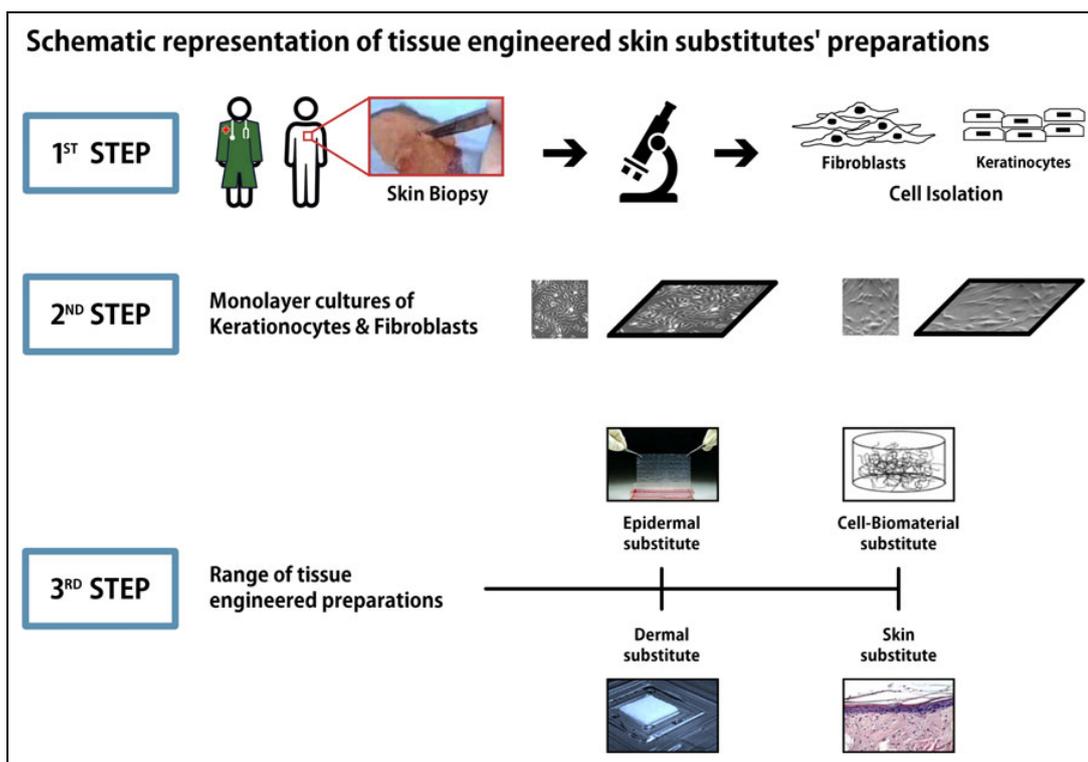


Figura 3. Esquema de la obtención de sustitutos dermoepidérmicos. Tomado de Catalno E et al.⁹.

Para que los equivalentes puedan tener una supervivencia larga deben estar formados fundamentalmente por queratinocitos basales (holoclonos)⁴. Sólo así se pueden obtener sustitutos que podrán ser usados como coberturas temporales. En cambio, si la población mayoritaria del equivalente son los denominados queratinocitos “comprometidos” (meroclones que conforman de forma mayoritaria la piel en condiciones normales) la viabilidad se verá afectada, pues estas células solo pueden dividirse unas pocas veces antes de diferenciarse en paraclones y sufrir procesos de senescencia celular⁴.

La integración de estos equivalentes es enormemente variable, siendo éste uno de los principales inconvenientes que, en ocasiones, provoca la aparición de ampollas incluso meses después del tratamiento tras someter a la piel a fuerzas mínimas de cizallamiento⁴.

Otros problemas de estos equivalentes son:

- Tiempo de cultivo celular excesivamente largo y por ello difícil coordinación entre suministro y aplicación clínica^{4-6, 11}.

- Difícil manejo por elevada friabilidad de los equivalentes^{4,6,11}.

La causa de los problemas descritos se encuentra en el propio proceso de obtención. Al dividirse los queratinocitos basales, se van distanciando progresivamente de los nutrientes al crearse una barrera cada vez mayor de queratinocitos maduros íntimamente unidos entre sí mediante desmosomas⁴. Por otra parte, para facilitar su manejo, la “lámina” de queratinocitos debe ser lo más gruesa posible, y, sin embargo, esto provoca una separación entre queratinocitos basales y nutrientes mayor, abocando a una pobre integración del equivalente⁴. Una manera de solucionar (al menos parcialmente) estos problemas, son los cultivos subconfluentes de queratinocitos⁴.

3.1.2. Cultivos subconfluentes

Pueden ser aplicados sobre el lecho de la herida mediante un aerosol que contiene queratinocitos en suspensión. Debe ser aplicado en una superficie a la que se puedan adherir las células por lo que se usa un pegamento de fibrina que se aplica sobre el lecho de la herida que queremos tratar⁴. La aplicación sobre el pagamento de fibrina mejora la fijación celular y ayuda a controlar el sangrado, sin embargo, no mejora el ratio de inclusión de los equivalentes ni aumenta el área cubierta⁴. Por otra parte, esta técnica consigue crear una membrana basal más rápido, y por tanto acelera la formación de una unión dermo-epidérmica madura⁴.

Existen otras formas de aplicación de los cultivos subconfluentes: cultivar o aplicar una monolamina de queratinocitos sobre membranas receptoras que pueden ser extraídas por procesos mecánicos de sus recipientes o pueden ser aplicadas directamente sobre el lecho de la herida⁴. En ambos casos se evita el procesamiento enzimático que puede alterar la estructura de las fibrillas de anclaje celular de los queratinocitos⁴. Estas membranas pueden ser de materiales sintéticos (p.ej. silicona o poliuretano) o de base biológica (p.ej. colágeno, pegamento de fibrina, ácido hialurónico o dermis acelular)⁴. Algunas de las ventajas de estas técnicas son un menor tiempo de cultivo, preparación y aplicación junto con las propiedades biológicas beneficiosas que poseen de algunas de las membranas receptoras⁴.

3.2. EQUIVALENTES DÉRMICOS

El fundamento teórico de estos equivalentes es el siguiente: Se ha visto que solamente el 15% de los equivalentes de células autólogas se integra satisfactoriamente si se aplican sobre un lecho con tejido de granulación crónico⁴; este porcentaje es del 28-47% si se aplica sobre tejido de granulación temprano o sobre una herida “fresca” recientemente desbridada⁴; no obstante, el porcentaje asciende al 45-75% si se aplica sobre una herida con “lecho dérmico o neodérmico” (todos estos datos ha sido corroborado con estudios in vivo)⁴. Es por este motivo por el cual los equivalentes dérmicos no se emplean con una intención curativa directa⁴. Los objetivos de estos sustitutos son dos: El primero (y el planteamiento con el cual se inició este campo) fue lograr un recubrimiento y aislamiento de la herida con un material similar a la ECM; el segundo, y el que se persigue hoy en día, es la preparación del lecho de la herida para conseguir un ratio óptimo de inclusión de los equivalentes epidérmicos⁴. Para lograrlo, se incluyen factores de crecimiento y citoquinas en una matriz o estructura tridimensional formada por proteínas presentes en la ECM, u otras con propiedades similares a estas^{4,5,7,9}.

La mayoría de equivalentes dérmicos son acelulares y están basados en materiales sintéticos, alogénicos o xenogénicos⁴. Al poseer solamente una estructura tridimensional que trata de imitar las propiedades fisicoquímicas de la ECM, estos sustitutos encajan perfectamente en la definición de scaffold, por tanto podemos afirmar que muchos de estos sustitutos están compuestos única y exclusivamente por una estructura tridimensional o scaffold. Esto es así porque es relativamente sencillo obtener la licencia para su aplicación clínica cuando se compara con los sustitutos que contienen material biológico viable (materiales celulares)⁴. La posibilidad de producir grandes lotes homogéneos del producto, la aplicación de controles de calidad estrictos y los costes de producción reducidos han tenido como resultado la aplicación rápida en la clínica, donde muchos ya han sido adoptados como tratamiento⁴.

3.3. EQUIVALENTES DERMOEPIDÉRMICOS

Este tipo de equivalentes tratan de imitar la estructura histológica de la piel normal. Son los equivalentes más sofisticados y avanzados, no obstante, también son los más caros⁴.

3.3.1. Células utilizadas

En estos equivalentes las células más frecuentemente utilizadas son fibroblastos y/o queratinocitos; estos a su vez pueden ser alogénicos o autólogos⁴⁻⁶. La mayor parte de los equivalentes dermoepidérmicos disponibles para uso clínico utilizan células de piel alogénicas integradas en una estructura dérmica^{4-6, 9}. Esto es así porque resulta relativamente sencillo obtener grandes cantidades del producto final sin necesidad de recurrir al cultivo de células del paciente que, como hemos comentado, podría retrasar el tratamiento semanas⁴. De esta forma se obtiene un resultado homogéneo, de comportamiento predecible y de fácil utilización⁴. No obstante, de acuerdo con lo afirmado por Rowan et al.⁴ cada vez son más los ensayos clínicos y estudios que intentan integrar en estos equivalentes otros tipos celulares que faciliten y mejoren el proceso de reepitelización. Tal y como afirmaron Tenenhaus M et al.⁶, las líneas celulares que más interés han despertado son los adipocitos y sus células precursoras, las células endoteliales y las células provenientes de la médula ósea.

3.3.2. Mecanismo de acción

Estos biomateriales actúan en las quemaduras como cubiertas biológicamente activas, aportando factores de crecimiento, citoquinas y una matriz extracelular adecuada que inicia y regula el proceso de reepitelización de la herida⁴. Además, aporta una cobertura física que impide los procesos de deshidratación y pérdida calórica y protege contra la infección. Por último, estos sustitutos son capaces de funcionar como focos o frentes de reepitelización que se integrarán definitiva o temporalmente en la piel del receptor mejorando los resultados tanto estéticos como funcionales finales⁴.

3.3.3. Tolerancia

Centrándonos en los dos tipos celulares más utilizados (fibroblastos y queratinocitos), podemos decir que los fibroblastos producen una respuesta

inmune o rechazo mínimo o nulo; por su parte, los queratinocitos si producen una reacción inmune. Esto se debe probablemente a diferencias en el complejo HLA entre ambos tipos celulares^{4,9}.

En lo referente a los fibroblastos podemos decir que su supervivencia media es de tres semanas⁴. Mientras en algunos estudios se registró una supervivencia de hasta dos meses, en otros estudios de tipo ensayo clínico o realizados en cerdos no han podido corroborar estos hechos⁴. Los estudios realizados en cerdos registraron una supervivencia media fibroblástica de 7 días, mientras que los de tipo ensayo clínico concluyeron que los fibroblastos alogénicos aplicados directamente sobre el lecho cruento de las quemaduras no son viables⁴. Como podemos ver, la supervivencia media de los fibroblastos alogénicos utilizados varía en gran medida en función de la técnica utilizada y de las condiciones del lecho sobre el que se aplican⁴.

Por su parte, los queratinocitos alogénicos a pesar de que reducen el dolor y aceleran la reepitelización, no sobreviven más de unas pocas semanas en el mejor de los casos cuando son aplicados sobre quemaduras^{4,9}. Esto se debe al rechazo inmune que generan. En este aspecto sí que parece que coinciden la mayor parte de los estudios consultados^{4-6, 9, 11}. La respuesta inmune inducida por los queratinocitos puede evitarse con la utilización de queratinocitos autólogos, no obstante, esto retrasa la aplicación del sustituto al hacerse necesario un período de cultivo celular⁴⁻⁶.

3.3.4. Conclusión

En la producción de equivalentes dermoepidérmicos permanentes se pueden usar tanto fibroblastos autólogos como alogénicos (con preferencia por estos últimos ya que resulta más sencillo obtener un producto final homogéneo, de comportamiento predecible y del que se pueda disponer rápidamente)⁴⁻⁶. No ocurre lo mismo con los queratinocitos que, idealmente, deberán ser autólogos para evitar el rechazo inmune y conseguir una supervivencia celular suficiente⁴. La aplicación de estos componentes celulares sobre un lecho cruento dificulta su viabilidad; por ello, es necesario incluir un soporte tridimensional con características fisicoquímicas similares a las de la ECM que faciliten el crecimiento celular y permitan una supervivencia celular adecuada, entre otras muchas propiedades. Esta estructura, como ya hemos mencionado anteriormente,

se conoce en la literatura científica con el nombre de “scaffold” y juega un papel determinante en el resultado final que se obtienen con los sustitutos dermoepidérmicos^{4-7, 9, 12, 13}.

3.4. SOPORTES TRIDIMENSIONALES (SCAFFOLDS)

Estas estructuras son fundamentales para la elaboración de los diferentes sustitutos (como ya hemos comentado al inicio del apartado 3) especialmente de los equivalentes dérmicos y dermoepidérmicos⁷. Inicialmente se concibieron como barreras físicas permeables a la humedad y al oxígeno que estimulaban y favorecían la cicatrización, mantenían limpios los tejidos dañados y disminuían los espacios muertos, controlaban la aparición de biofilms bacterianos y con ello la aparición de infección, mantenían la humedad adecuada del lecho de la herida y disminuían el dolor^{4, 7, 13}.

Actualmente, los scaffolds que se utilizan en los equivalentes son mucho más complejos y poseen más propiedades beneficiosas que las ya comentadas^{12, 13}. Como ya se ha señalado en numerosas ocasiones, podríamos decir que conceptualmente los scaffolds tratan de simular un microambiente lo más similar posible al existente en la ECM de la piel no dañada⁷. Además, de manera grosera, se puede establecer una diferencia según el método de obtención de los mismos: producidos a partir de piel viable humana/animal (p.ej. decelularización) o producidos artificialmente (p.ej. impresión 3D)^{7, 10, 12, 13}. Generalmente todos ellos comprenden una estructura tridimensional e incluyen diferentes señales bioquímicas como factores de crecimiento y/o células de soporte.

3.4.1. Características ideales

En primer lugar deben poseer una estructura con una esponjosidad y porosidad determinadas para facilitar la adhesión y la migración celular, la angiogénesis y el intercambio metabólico^{7, 12}. En segundo lugar, deben tener una conformación tridimensional estable y propiedades mecánicas intrínsecas similares a la ECM del tejido que pretende sustituir o imitar, en el caso que nos ocupa se tratará siempre de ECM de dermis o de epidermis^{7, 12}. En tercer lugar, deben ser biocompatibles y biodegradables a un ritmo previamente establecido y modificable^{7, 12}. En cuarto lugar, no deben inducir una respuesta inmune en el receptor^{7, 12}. Por último, deben

de ser capaces de incluir señales biológicas y/o físicas que faciliten y guíen el crecimiento del fenotipo celular deseado^{7, 12}.

El desarrollo conseguido hasta la fecha ha permitido que los scaffolds proporcionen soporte mecánico adecuado para el tejido de regeneración gracias a su estructura tridimensional, incorporen señales bioquímicas y dirijan el crecimiento celular y el remodelamiento tisular en un microambiente óptimo para la reparación y regeneración tisular^{7, 12, 13}. No obstante, también se han encontrado con algunos problemas. Entre ellos destaca la ausencia de un nicho celular específico y la existencia de diferencias entre la estructura anatómica real y el scaffold (no se ha logrado imitar completamente la estructura de la dermis y epidermis en los creados mediante métodos artificiales y, en aquellos obtenidos a partir de epidermis o dermis de seres humanos o animales, se altera ligeramente su composición y estructura)^{7, 12}. Resumiendo, la mayoría de los scaffolds existentes son incapaces de asegurar una integración molecular organizada y de proporcionar las señales moleculares adecuadas en cada momento^{7, 12}.

Históricamente se han utilizado una gran cantidad de materiales para la elaboración de los scaffolds que podemos dividir en dos grupos: Biopolímeros naturales (incluye proteínas y polisacáridos presentes de manera natural en la ECM humana) y biopolímeros sintéticos (son moléculas complejas creadas por el hombre y que imitan las propiedades fisicoquímicas de los biopolímeros naturales o tratan de mejorarlas)^{7, 10, 12, 13}.

3.4.2. Biopolímeros naturales

La ECM, tal y como se ha definido en el punto 1.7.3. constituye un soporte tridimensional para las células que se embeben en ella y además posee muchas otras propiedades bioquímicas. Estudios llevados a cabo recientemente han demostrado la relevancia de la ECM en el proceso de reparación de las heridas, pues han confirmado que puede influenciar, entre otros, la diferenciación y/o crecimiento celular y, por tanto, funcionar como inductor de diferentes procesos celulares¹⁰. Es por este motivo por el que algunos de los componentes más utilizados para la creación de scaffolds son los biopolímeros naturales que son biocompatibles, biodegradables, hidrófilos y crean un entorno semejante al creado por la ECM¹⁰. Conocer la composición de la ECM es fundamental para entender

cuál es su papel en la reparación y regeneración de tejidos y para la producción de scaffolds. De manera esquemática y de acuerdo con Yi S et al.⁷ podemos decir que su composición es la siguiente:

3.4.2.1. Colágeno

Existen numerosas isoformas de colágeno que pueden ser divididas en subfamilias (formadores de fibrillas, asociados a fibrillas, formadores de redes, colágenos transmembrana y redes multicapa de colágeno). Sin entrar a valorar las propiedades específicas de cada isoforma, podemos decir que todas ellas tienen la capacidad de formar superestructuras complejas y funcionales al depositarse y ensamblarse entre sí y con otras macromoléculas no colagénicas. De esta forma, el colágeno aporta la arquitectura molecular y las propiedades mecánicas principales de la ECM, confiriendo consistencia, flexibilidad y equilibrio homeostático a cada tejido del organismo en función de la isoforma que predomine.

3.4.2.2. Elastina

Se trata de una macromolécula que aporta propiedades elásticas a la ECM. En primer lugar se secreta como precursor (denominado tropoelastina) por diferentes tipos celulares (fibroblastos, células musculares, keratinocitos...). Tras ser secretadas las tropoelastinas se agregan formando microfibrillas y, posteriormente, establecen enlaces cruzados que acaban por conformar las fibras de elastina. También determina otras propiedades de la ECM como la distensibilidad aportando a los tejidos integridad mecánica y modulando el comportamiento celular.

3.4.2.3. Fibrilina

Junto con la elastina se trata de uno de los principales componentes de las fibras elásticas. Se acoplan sobre el armazón que conforman las microfibrillas de elastina, contribuyendo a la formación de las fibras elásticas, que determinan la capacidad de estiramiento y/o flexión de la ECM.

3.4.2.4. Fibulina

Se trata de una familia de glicoproteínas en estrecho contacto con la membrana basal y con diferentes componentes de la ECM, y que juegan un papel

determinante en la organización y estabilización de la estructura supramolecular de la ECM. Por otra parte, sus sitios activos también intervienen en la regulación de una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos, como el crecimiento celular, la diferenciación celular o la angiogénesis, entre otros.

3.4.2.5. Laminina

Glicoproteína con 18 isoformas. Autopolimeriza en la ECM en formación y establece enlaces con otros componentes mayoritarios de la misma para acabar formando la membrana basal (MB). Además, durante la organogénesis y la curación de las heridas modula activamente el comportamiento celular, regula la tasa de proliferación celular, diferenciación, adhesión y migración y promueve la reepitelización y la angiogénesis.

3.4.2.6. Fibronectina

Glicoproteína ampliamente distribuida. Se puede dividir en dos subfamilias: solubles y no solubles. La subfamilia de las no solubles son las que están presentes en la ECM; son secretadas por diferentes tipos celulares y también reciben el nombre de fibronectinas celulares. Entre sus funciones destacan la unión o fijación entre la superficie celular y la ECM y la capacidad para guiar el ensamblaje de diferentes componentes de la misma; por eso se le llama “*master organizer*” (organizador principal). Además de las funciones comentadas, la fibronectina promueve la adhesión celular y la extensión celular, ejerce influencia sobre las rutas de migración celular y actúa sobre otros muchos procesos biológicos (de especial interés son la intervención en la reparación de las heridas, la diferenciación de células embrionarias y la fagocitosis).

3.4.2.7. Tenascina

Familia de glicoproteínas multiméricas. Entre sus funciones destaca la facilitación de la adhesión celular y de la extensión celular. No obstante, sus acciones pueden ser perjudiciales en algunas condiciones.

3.4.2.8. Trombospondina

Familia de glicoproteínas ligadoras de calcio, que actúan como puente de unión para facilitar la incorporación de compuestos moleculares a la ECM y regulan su

organización y metabolismo. Además, media las interacciones célula-célula y célula-matriz y modula importantes actividades celulares como la migración celular, la angiogénesis, la remodelación tisular y el crecimiento tumoral.

3.4.2.9. Integrina

Glicoproteína heterodimérica. Sus funciones principales son dos. Por un lado se encarga de la adhesión de la célula a la ECM, gracias a su porción intracitoplasmática posibilita la relación entre esta y el citoesqueleto celular. Por otro lado, funciona como un receptor transmembrana que se encarga de la transducción de señales que están presentes en la ECM y que terminan por mediar las vías de señalización celular de las proteinquinasas transmembrana. Gracias a esta última función pueden influir en el crecimiento celular, la división, la diferenciación, la supervivencia y la apoptosis celular.

3.4.2.10. Glicosaminoglicanos

Son los heteropolisacáridos más abundantes del organismo, y uno de los principales componentes de la ECM. La mayoría establece enlaces covalentes con proteínas nucleares para formar proteoglicanos (también llamados mucopolisacáridos). Los glicosaminoglicanos y los proteoglicanos no solo “rellenan” los espacios vacíos de la ECM, sino que también participan en las interacciones célula-célula y en las interacciones célula-ECM, en la proliferación y migración celular así como en la cicatrización de las heridas y en la remodelación tisular.

3.4.2.11. Conclusión

Para la elaboración y composición de los scaffolds se tienen en cuenta todas las moléculas comentadas hasta el momento, sus propiedades y el papel que juegan en los diferentes procesos celulares. Este proceso de análisis y estudio de la ECM ha determinado que hoy en día las moléculas que más se utilicen, por su similitud a las descritas hasta el momento, sean polisacáridos (principalmente β -glucanos, dextranos, quitina, quitosano, ácido hialurónico, condroitina, queratan-sulfato o dermatán-sulfato entre otros) y proteínas (especialmente colágeno, elastina, fibrina, fibrinógeno, queratina, factores de crecimiento, enzimas, albúmina de suero bovino y proteínas vegetales). Otros compuestos que se usan habitualmente

en la elaboración de scaffolds aunque menos abundantes en su composición son glicolípidos y proteoglicanos (conjugados de proteínas y glucosaminglicanos, nanocompuestos de glucosaminglicanos y complejos poliméricos de glucosaminglicanos).

3.4.3. Biopolímeros sintéticos

Estos biopolímeros son, como ya hemos comentado, creados artificialmente y no los encontramos habitualmente en la ECM. Entre sus ventajas destacan sus excelentes propiedades mecánicas (que son incluso superiores a las de los biopolímeros naturales) y la posibilidad de adaptación a las necesidades específicas de cada sustituto (es posible modificar sus características mecánicas o su cinética de degradación alterando la estructura polimérica)¹³. No obstante, estas moléculas carecen de la gran ventaja que supone la mimetización de la ECM de los biopolímeros naturales¹³. Algunas de las moléculas utilizadas son el ácido poliglicólico (PGA), ácido poliláctico (PLA) policarbonatos, poliuretanos, polifosfacenos o poliprolipeno fumarato^{10, 13}.

Es importante destacar que existen compuesto que utilizan ambos tipos de biopolímeros (naturales y artificiales) buscando obtener las ventajas de ambos y tratando de evitar sus desventajas^{10, 13}.

3.4.4. Scaffolds derivados de tejidos u órganos

En general, los scaffold derivados de órganos o tejidos son alogénicos o xenogénicos, y se obtienen mediante decelularización y, seguidamente, esterilización^{6, 7}. Como su propio nombre indica, el proceso de decelularización consiste en eliminar de un tejido de origen humano o animal el contenido celular de la ECM. Las ventajas de este método son evidentes; obtenemos un producto de características fisicoquímicas extremadamente similares a la ECM del receptor evitando complejos procesos de producción^{6, 7}. Este tipo de scaffolds no solo proporcionan soporte mecánico adecuado a las células sino que también juegan un papel crucial en la mecanotransducción de señales ya que puede combinarse de manera reversible con factores de crecimiento y citoquinas^{6, 7}. Además permite que estas citoquinas interaccionen con receptores de membrana celulares a través de integrinas. Estos sustitutos proporcionan nichos celulares para la proliferación del tipo celular deseado, un microambiente adecuado y promueve la reparación y

el crecimiento tisular gracias a las señales bioquímicas^{6, 7}. Para que estos sustitutos sean realmente efectivos deben poseer una serie de cualidades tras su procesamiento (decelularización y esterilización), que, tal y como afirmaron Yi S et al.⁷, son:

3.4.4.1. Biodegradación

Como se ha comentado el scaffold ideal debe resultar biodegradable y además debe de ser posible controlar y modificar el tiempo necesario para su degradación para poder adecuarlo a la tasa de crecimiento y regeneración del tejido interesado. Para ello, en primer lugar, es necesario conocer los procesos que subyacen en la biodegradación, que tiene lugar gracias a la actividad enzimática y a la actividad celular del propio tejido; además, es importante saber que los productos resultantes de esta degradación pueden influir en el proceso de remodelación tisular. Por todo ello, debemos asegurarnos de que ni su composición ni los productos resultantes de su degradación resultarán tóxicos ni nocivos para el organismo o para el proceso de curación de las heridas.

Por último, una de las técnicas más utilizadas para poder modificar el tiempo de degradación del scaffold consiste en extraer o eliminar determinadas proteínas del mismo, facilitando o dificultando la degradación, y, por tanto, acortando o dilatando el proceso de acuerdo con nuestras necesidades. En este sentido debemos saber que el proceso de decelularización prolonga considerablemente el tiempo de biodegradación y además promueve una respuesta angiogénica adecuada y eficiente.

3.4.4.2. Inmunogenicidad

Uno de los principales retos que planteaba la utilización de scaffolds de origen alogénico y xenogénico era la inducción de una respuesta inflamatoria aguda inmunomediada contra el injerto. Gracias al proceso de decelularización son eliminados los componentes celulares potencialmente inmunogénicos de estos scaffolds, evitando, por tanto, la respuesta inmunomediada. Los componentes no eliminados son, en su mayoría, proteínas cuya estructura está altamente conservada entre especies (posibilidad de utilización de scaffolds con origen xenogénico) y, por supuesto, entre humanos (posibilidad de utilización de

scaffolds de origen alogénico); por lo que resultan muy similares entre sí y no producen respuesta inflamatoria de ningún tipo.

Tras la exposición de las características principales que deben poseer los scaffolds derivados de tejidos u órganos explicaremos de qué manera se obtienen de acuerdo con lo dicho por los mismo autores⁷:

3.4.4.3. Decelularización

Existen diferentes técnicas mediante las cuales es posible eliminar el componente celular (altamente inmunogénico) de los órganos y tejidos. Estas se basan en métodos físicos, químicos y biológicos. No obstante, todos tratan de eliminar las células de sus anclajes (en los que la integrina tiene un papel principal) y de sus complejos de adhesión intercelulares, mientras pretenden mantener intacta la estructura de la ECM así como sus ligandos. Resulta evidente que no es posible eliminar todos los restos y materiales resultantes de este proceso, por ello se han establecido una serie de requisitos que deben cumplir todos los scaffolds; estos requisitos son: Menos de 50 ng de DNA de doble cadena por mg de peso seco de ECM, fragmentos de DNA con una longitud máxima de 200 pares de bases y la ausencia de material nuclear visible en el tejido en una tinción histológica como la tinción de hematoxilina-eosina.

Comentaremos las principales técnicas y características de los diferentes métodos de decelularización:

3.4.4.3.1. Métodos físicos

Todos tienen como objetivo la ruptura física de la membrana celular y, por lo tanto, la lisis de las células. Esto se consigue mediante los métodos de *snap-freezing* (ciclos de congelación repetidos) *force and pressure method* (se somete a los tejidos a diferentes gradientes de presión, agitación, inmersión, y fuerzas mecánicas) y *electroporation method* (basado en la aplicación de pulsos eléctricos de microsegundos de duración; este método es el que respeta en mayor grado la integridad, morfología, y estructura tridimensional de la ECM, no obstante, solo puede ser aplicado en tejidos y órganos finos o pequeños).

3.4.4.3.2. Métodos químicos

Se basan en la utilización de ácidos y bases, detergentes, soluciones con diferentes osmolaridades (hipoosmolares e hiperosmolares) y disolventes para lograr la desestructuración celular y, por tanto, provocar la lisis celular. A pesar de resultar métodos relativamente sencillos, estos métodos presentan numerosas desventajas: los ácidos y las bases pueden eliminar moléculas importantes y factores de crecimiento de la ECM; los detergentes tienden a desorganizar la estructura de la ECM y, al igual que los ácidos y las bases, pueden destruir los factores de crecimiento presentes; las soluciones hipo o hiperosmolares presentan dificultades a la hora de eliminar todos los remanentes celulares y de DNA; y, por último, los disolventes provocan la precipitación de proteínas y dañan la ultraestructura de la ECM.

3.4.4.3.3. Métodos biológicos

Pueden dividirse en enzimáticos (existen multitud de enzimas que pueden ser utilizadas para este fin; p. ej. Tripsina, nucleasa, lipasa o colagenasa) y no enzimáticos (entre los cuales destacan los métodos quelantes). Los métodos quelantes por si solos han demostrado no ser capaces de eliminar la cantidad suficiente de material celular por lo que se usan en combinación con otros métodos. Por su parte, los métodos enzimáticos, a pesar de que consiguen una decelularización muy efectiva, pueden dañar algunos de los componentes principales de la ECM como la elastina o el colágeno. Para tratar de minimizar este daño, se han modificado las concentraciones enzimáticas, la temperatura y el tiempo durante el cual tiene lugar el proceso; de esta forma se ha conseguido reducir el daño infligido a la ultraestructura de la ECM.

3.4.4.3.4. Conclusión

Evidentemente, para optimizar el resultado final de la decelularización se combinan las técnicas expuestas hasta el momento. Los métodos usados, el orden en el que se aplican, así como el resto de variables modificables de cada proceso se elegirán en función del tejido que se pretenda decelularizar. No obstante, no existe un proceso estandarizado con el que obtener el producto final, de esta forma, existen diferencias metodológicas entre las diferentes casas comerciales en los procesos de obtención de dichos productos.

3.4.4.4. Esterilización

Este proceso es de aplicación obligatoria tras la decelularización. En él se eliminan endotoxinas así como DNA bacteriano y viral que pudiera permanecer en el tejido u órgano procesado. Los métodos más utilizados son la incubación en medio ácido, tratamiento con óxido de etileno y especialmente la irradiación con rayos gamma e irradiación con haz de electrones.

3.5. IMPRESIÓN 3D DE TEJIDOS

Se trata de una técnica novedosa, en crecimiento y en la que se está realizando una gran inversión. Los motivos que han despertado el interés por la impresión 3D son dos: por un lado, la necesidad de elaborar sustitutos dermoepidérmicos para el tratamiento de heridas, especialmente de quemaduras; por el otro, la necesidad de crear tejidos artificiales que simulen las condiciones y comportamiento de la piel humana para poder testar en ellos nuevos productos médico-estéticos¹⁰.

El proceso para la obtención de tejidos mediante impresión 3D fue explicado por Vijayavenkataraman S et al.¹⁰, y se compone de 6 pasos esquematizados en la **Figura 4**, y que se explican en los apartados siguientes.

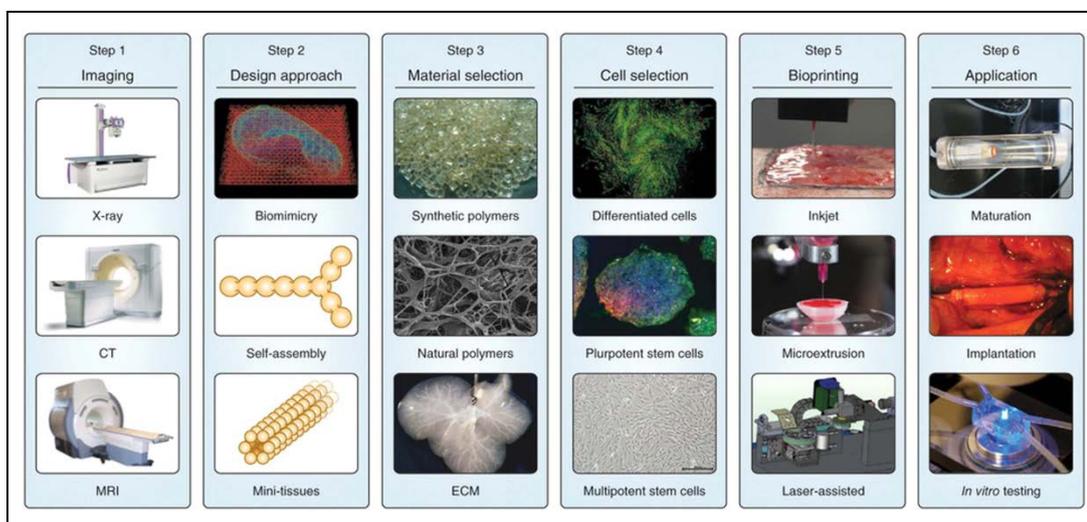


Figura 4. Esquema del proceso de impresión 3D. Tomado de Vijayavenkataraman S et al.¹⁰.

3.5.1. Toma de imágenes

Este primer paso es crucial. Consiste en “fotografiar” el área a tratar mediante técnicas de imagen disponibles en la mayor parte de hospitales como son la TC, la RMN y la Rx. Otro punto importante, y de reciente introducción, es la inclusión del color de piel o fototipo entre los parámetros estudiados en la toma de imágenes. La finalidad de esta nueva medida es tratar de conseguir un resultado final similar al tono de piel natural del paciente, mejorando así el resultado estético.

3.5.2. Diseño

En este paso se procesan las imágenes obtenidas en el primer punto. Los programas de procesamiento ya están disponibles hoy en día y algunos de ellos son basados 100% en la web, es decir, están disponibles desde cualquier ordenador con acceso a internet. Este procesamiento fusiona las imágenes obtenidas en 2D para crear un plano 3D que servirá como guía a la impresora 3D.

3.5.3. Selección de materiales

Es uno de los procesos clave. Los materiales que pueden ser utilizados son los biopolímeros naturales o los sintéticos. Como hemos visto, ambos poseen ventajas e inconvenientes; por ello, la tendencia actual es utilizar una combinación de ambos tratando de superar las desventajas sin renunciar a los beneficios. La composición exacta y proporción de biopolímeros utilizada es altamente compleja y dependerá de las características del sustituto que queremos obtener (área, espesor o región corporal sobre la que se va a aplicar entre otros) y podría ser tema para la elaboración de un nuevo trabajo de revisión.

3.5.4. Selección celular

Este paso también resulta crucial. En este tipo de sustitutos se pueden usar células diferenciadas, pluripotentes o células madre. Clásicamente en los sustitutos se utilizan fibroblastos y queratinocitos pluripotentes, en diferentes proporciones y de diferentes orígenes. No obstante, la impresión 3D nos permite introducir de manera relativamente sencilla otros tipos celulares como melanocitos diferenciados (cuyo fin es la producción de melanina en la cantidad adecuada y suficiente para obtener el mismo color de piel del paciente) o células endoteliales

(para favorecer la angiogénesis y la neovascularización del sustituto) entre otros. Otras estructuras celulares como los folículos pilosos y las glándulas sebáceas todavía suponen un reto en el que trabajan diferentes grupos de investigación.

3.5.5. Bioimpresión

En este paso se materializa el sustituto que hemos diseñado con los pasos anteriores. Las técnicas utilizadas para este proceso como *Lasser assisted Bioprinting (LaBP) of skin tissue*, *Robotic dispensing based 3D-bioprinter*, *Cryogenic extrusión based direct-plotting system*, *Microfluidic approach based skin printer* y *In situ bioprinting of skin* son altamente complejas y, al igual que la selección de materiales, pueden ser tema de un nuevo trabajo de revisión. El proceso de impresión y el resultado se pueden esquematizar de forma sencilla tal y como se muestra en la **Figura 5**.

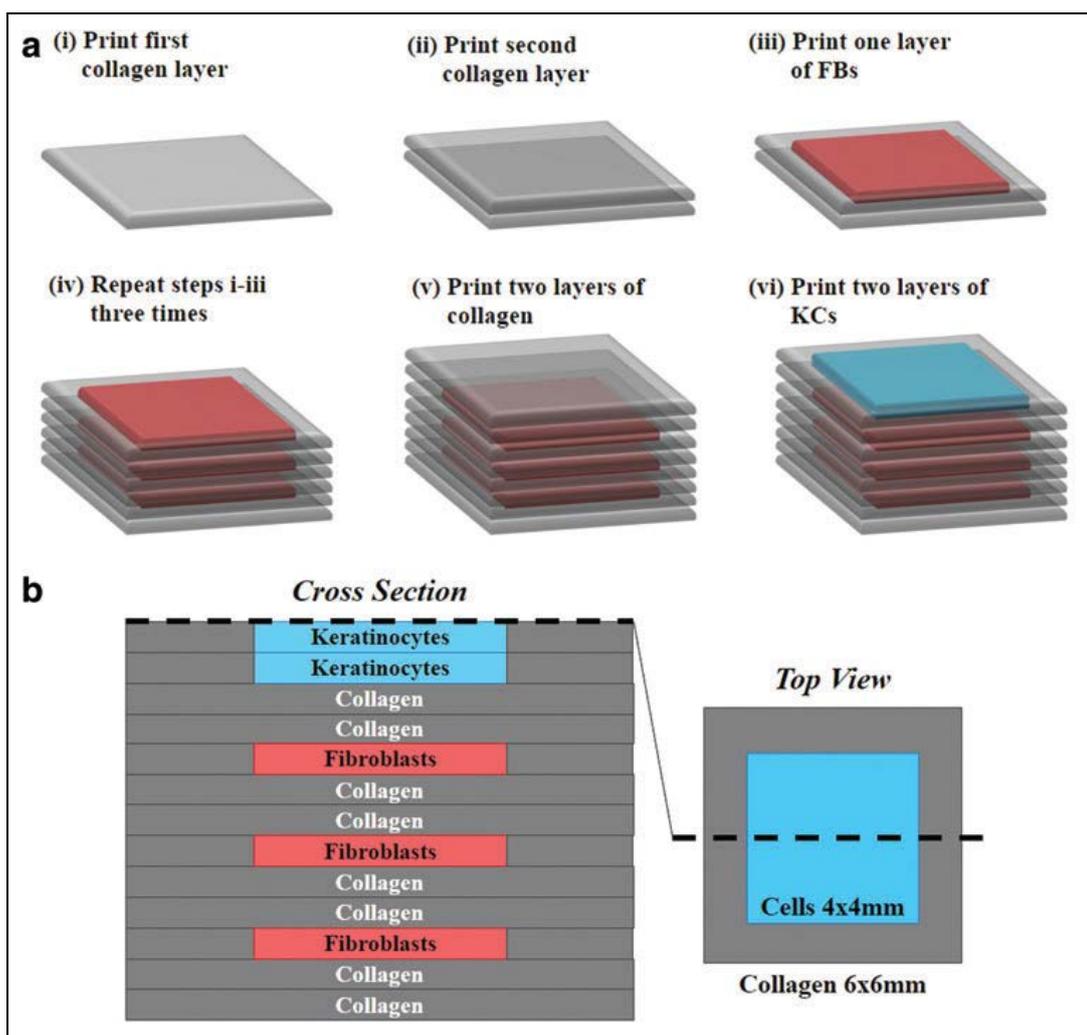


Figura 5. Esquema de la impresión de sustitutos en 3D. Tomado de Lee V et al.¹¹.

3.5.6. Aplicación

En este punto se incluyen diferentes pasos del postprocesado. Primero se lleva a cabo la maduración del sustituto en bioreactores. Este proceso facilita el crecimiento y fijación al sustrato de las células incluidas en el sustituto. Finalmente se lleva a cabo su implantación o injerto sobre el lecho de la herida.

3.6. PREPARACIONES DISPONIBLES EN LA CLÍNICA

A continuación, e integrando todos los contenidos aportados hasta el momento, se comentarán los equivalentes disponibles hoy en día para su aplicación clínica, organizándolos en función de su integración y su composición. Al final de este apartado se proporciona una tabla (**Tabla 3**) que trata de presentar de forma esquemática y ordenada la información que se expondrá a continuación.

3.6.1. Sustitutos temporales de la piel

Como su nombre indica estos sustitutos no se integran en la piel del paciente; su función consiste en proporcionar una cubierta que optimiza las condiciones del lecho de la herida evitando que tengan lugar los procesos que aumentan la morbimortalidad de los pacientes (infecciones, pérdida de calor y deshidratación) y promoviendo la reepitelización. Estos compuestos están formados por una matriz y, en ocasiones, una población celular. De esta forma distinguimos:

3.6.1.1. Acelulares

Formados exclusivamente por una estructura tridimensional o matriz que protege el lecho de la herida a la que se pueden añadir factores de crecimiento que facilitan o promueven la reepitelización o curación de la herida. En función del origen de la matriz podemos subdividirlos en xenogénicos (utilizan moléculas de origen animal o artificial) o alogénicos (utilizan moléculas creadas con poblaciones celulares procedentes de un “donante” humano y generalmente procesadas *in vitro*)^{4-6, 15, 16}.

3.6.1.2. Celulares

Están formados por una estructura tridimensional en la que se incluyen células de origen humano (autólogas o alogénicas) o animal (xenogénicas) cuya base teórica es la formación de un lecho idóneo que facilite la reepitelización de la

herida a partir de las células remanentes del paciente. En este caso el sustituto no solo cumple las funciones de protección y promoción que cumplen los compuestos acelulares, sino que, además, pretende adaptarse a las condiciones locales en cada momento aportando señales bioquímicas y un microambiente adecuado para estimular la reepitelización y los procesos de cicatrización y contracción de la herida^{4-6, 15, 16}.

Como ocurría con los sustitutos temporales acelulares, la matriz en la que se incluyen estas células puede tener diferentes orígenes, es decir, origen xenogénico o alogénico^{4-6, 15, 16}.

3.6.2. Sustitutos permanentes de la piel

La intención con los sustitutos permanentes es que se integren en la piel del paciente pasando a formar parte de la misma. Se trata de proporcionar a la herida algunas de las funciones y propiedades de una piel intacta como la capacidad de regeneración, el aislamiento térmico y el aislamiento del medio no estéril. Como se ha dicho, estos sustitutos se integrarán total o parcialmente en la piel del paciente, por ello, se debe tener especial cuidado con la compatibilidad entre sustituto y receptor. Estos sustitutos pueden ser:

3.6.2.1. Acelulares

Estos sustitutos están conformados por una estructura tridimensional o matriz que recubre el lecho de la herida al que protege. Estos sustitutos al ser acelulares no son inmunogénicos y no provocan ningún tipo de rechazo; por ello, se integran fácilmente en la piel del paciente. En algunos casos estos sustitutos se complementan con el uso de injertos autólogos de espesor parcial extrafinos^{4-6, 15, 16}. En función del origen de esta matriz podemos subclasificarlos a su vez en xenogénicos (utilizan moléculas de origen animal o artificial) o alogénicos (utilizan moléculas creadas con poblaciones celulares procedentes de un “donante” y generalmente procesadas *in vitro*)^{4-6, 15, 16}. En algunos casos la matriz es una mezcla de compuestos de diferentes orígenes, tanto xenogénicos como alogénicos^{4-6, 15, 16}.

3.6.2.2 Celulares

Al tratarse de compuestos celulares el objetivo, en este caso, no es solamente la protección y recubrimiento del lecho de la herida; además, se pretende que estos sustitutos proliferen y colaboren en el proceso de reepitelización mediante la propia división celular y mediante el aporte de factores de crecimiento y citoquinas adecuadas en cada momento que faciliten y promuevan los citados procesos en las células del propio paciente^{4-6, 15, 16}. En este caso nos encontramos compuestos que pueden incluirse o no en una matriz celular^{4-6, 15, 16}. Al tratarse de compuestos celulares son potencialmente inmunógenos y esto puede llevar al fracaso del injerto por rechazo⁴. No obstante, para solucionar este problema muchos de estos sustitutos utilizan células con capacidad proliferativa (queratinocitos basales u holoclones) extraídas de la piel del propio paciente que se cultivan *ex vivo* y son integradas en matrices que optimizan su crecimiento, proliferación y especialización^{4-6, 15, 16}. Aun así, existen sustitutos que, a pesar de estar formados por células alogénicas, logran evitar el rechazo^{4-6, 15, 16}. Esto es posible porque las células alogénicas utilizadas son fibroblastos que poseen un potencial inmunógeno inferior a otros tipos celulares, tal y como se ha explicado anteriormente^{4-6, 15, 16}.

Ya hemos dividido estos sustitutos en autólogos o alogénicos y en sustitutos con matriz y sin matriz; pero, como sucedía con los sustitutos acelulares también podremos diferenciarlos y clasificarlos atendiendo al origen de la matriz que empleen. Así tenemos sustitutos con matriz de origen xenogénico (en este caso las matrices de origen animal son poco utilizadas y sobre todo se utilizan matrices construidas mediante compuestos sintéticos recombinantes o completamente artificiales) y alogénico^{4-6, 15, 16}. En algunos casos la matriz es una mezcla de compuestos de diferentes orígenes: tanto xenogénicos (especialmente sintéticos) como alogénicos^{4-6, 15, 16}.

BIBLIOGRAFIA

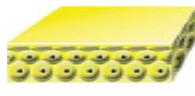
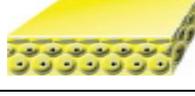
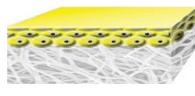
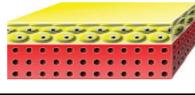
1. Gallagher JJ. Quemaduras. En: Sabiston Tratado de Cirugía. Townsend C, Beauchamp R, Evers M, Mattox K (ed). 17ª ed. Barcelona: Elsevier; 2013. pp. 521-547.

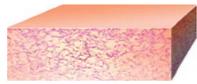
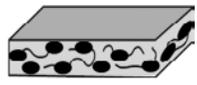
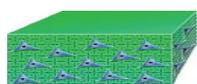
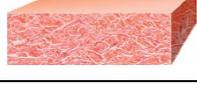
2. Calzado I. Trastornos por el calor y el frío. En: Medicina interna. Rozman C, Farreras Valentí P, Domarus A, Agustí A, Cardellach López F (ed). 17ª ed. Vol 2. Barcelona: Elsevier; 2012. pp. 2426-2431.
3. García-Sancho L. Traumatismos por agentes físicos. En: Tratado de Patología y Clínica Quirúrgicas. Durán H, Arcelsus I, García-Sancho L, González F, Alvarez J, Fernandez L (ed). 3ª ed. Vol 1. Madrid. Interamericana/McGraw-Hill; 1994. pp. 324-341.
4. Shevchenko R, James S, James S. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *J R Soc Interface* 2009;7(43):229-258.
5. Rowan M, Cancio L, Elster E, Burmeister D, Rose L, Natesan S et al. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Crit Care*. 2015;19(1).
6. Tenenhaus M, Rennekampff H. Current Concepts in Tissue Engineering. *Plast Reconstr Surg*. 2016;138:42S-50S.
7. Yi S, Ding F, Gong L, Gu X. Extracellular Matrix Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2017;12(3):233-246.
8. Kierszenbaum A. Sistema tegumentario. En: Kierszenbaum A, Tres L (ed). *Histología y biología celular*. 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 2012. pp. 339-363.
9. Catalano E, Cochis A, Varoni E, Rimondini L, Azzimonti B. Tissue-engineered skin substitutes: an overview. *J Artif Organs*. 2013;16(4):397-403.
10. Vijayavenkataraman S, Lu W, Fuh J. 3D bioprinting of skin: a state-of-the-art review on modelling, materials, and processes. *Biofabrication*. 2016;8(3):032001.
11. Lee V, Singh G, Trasatti J, Bjornsson C, Xu X, Tran T et al. Design and Fabrication of Human Skin by Three-Dimensional Bioprinting. *Tissue Eng Part C: Methods*. 2014;20(6):473-484.
12. Dickinson L, Gerecht S. Engineered Biopolymeric Scaffolds for Chronic Wound Healing. *Front Physiol*. 2016;7.
13. Mogoşanu G, Grumezescu A. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *Int J Pharm*. 2014;463(2):127-136.

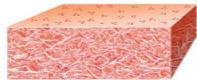
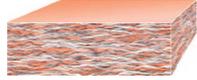
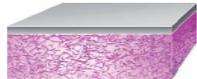
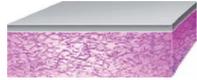
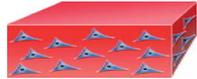
14. Larouche D, Cantin-Warren L, Desgagné M, Guignard R, Martel I, Ayoub A et al. Improved Methods to Produce Tissue-Engineered Skin Substitutes Suitable for the Permanent Closure of Full-Thickness Skin Injuries. *Biores Open Access*. 2016;5(1):320-329.
15. Horch R, Kopp J, Kneser U, Beier J, Bach A. Tissue engineering of cultured skin substitutes. *J Cell Mol Med*. 2005;9(3):592-608.
16. Chaves-Rodríguez M, Calvo-Castro L, Alvarado-Meza R, Madrigal-Monge O, Ulloa-Fernández A, Centeno-Cerdas C. Sustitutos e injertos de piel desarrollados por ingeniería de tejidos. *Tecnología en Marcha*. 2015;28(5):46-57.

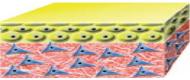
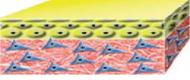
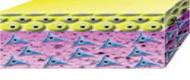
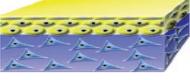
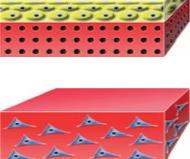
ANEXO 1 – TABLAS RESUMEN

Tabla 3. Recopilación de sustitutos existentes y sus principales características tomado de Sevchenko R et al.⁴, Rowan M et al.⁵, Tenehaus M et al.⁶, Horch R et al.¹⁵ y Chaves-Rodríguez M et al.¹⁶.

Nombre del sustituto y Empresa productora	Esquema del sustituto	Características del componente celular	Características del scaffold	Aplicaciones terapéuticas publicadas
Epidérmicos - Temporales				
Suprathel Institute of Textile and Process Engineering		Inexistente	Sintético. Lámina de ácido poliláctico.	Quemaduras de grosor parcial y cobertura de heridas por autoinjertos.
Epidérmicos - Permanentes				
CellSpray Clinical Cell Culture (C3), Perth, Australia		Suspensión subconfluente de queratinocitos autólogos no cultivados.	Inexistente	Quemaduras extensas de grosor parcial.
Epicel Genzyme Biosurgery, Cambridge, MA, USA		Cultivo laminar estratificado de queratinocitos autólogos confluentes.	Inexistente	Quemaduras extensas y úlceras de grosor parcial o total.
EpiDex Modex Therapeutiques, Lausanne, Switzerland		Cultivo laminar estratificado de queratinocitos autólogos confluentes obtenidos de folículos pilosos.	Inexistente	Quemaduras extensas y úlceras de grosor parcial o total.
EPIBASE Laboratories Genevri, Sophia-Antipolis, Nice, France		Cultivo laminar estratificado de queratinocitos autólogos confluentes.	Inexistente	
MySkin CellTran Ltd, Sheffield, UK		Cultivo laminar estratificado de queratinocitos autólogos subconfluentes.	Sintético. Capa de soporte de silicona con un revestimiento de superficie especialmente formulado.	Quemaduras de grosor parcial total y úlceras crónicas.
Bioseed-S Bio Tissue Technologies GmbH, Freiburg, Germany		Cultivo en suspensión de queratinocitos autólogos subconfluentes.	Alogénico. Sellador de fibrina.	
Laserskin o Vivoderm Fidia Advanced Biopolymers, Padua, Italy		Cultivo laminar estratificado de queratinocitos autólogos subconfluentes.	Recombinante. Membrana microperforada de ácido hialurónico.	Quemaduras de grosor parcial o completo.

Nombre del sustituto y Empresa productora	Esquema del sustituto	Características del componente celular	Características del scaffold	Aplicaciones terapéuticas publicadas
Dérmicos - Temporales				
EZ Derm Brennen Medical Inc., MN, USA		Inexistente	Xenogénico. Aldehído porcino reticulado y colágeno dérmico reconstituido.	Heridas extensas de grosor parcial completo.
ICX-SKN Intercytex Ltd., St John's Innovation Center, Cambridge, UK		Cultivo de fibroblastos dérmicos alogénicos.	Alogénico. Matriz extracelular natural humana obtenida a partir de los propios fibroblastos del sustituto.	Epidermolisis bullosa y cicatrices anómalas.
Biobrane/Biobrane-L UDL Laboratories Inc., Rockford, IL, USA		Inexistente	Xenogénico y sintético. Película de silicona, red de nylon y colágeno porcino.	Cobertura temporal de heridas extensas de grosor parcial.
TransCyte (DermagraftTC) Advanced BioHealing Inc., New York, NY and La Jolla, CA, USA		Cultivo de fibroblastos neonatales alogénicos.	Xenogénico y sintético. Película de silicona, red de nylon, colágeno dérmico porcino.	Úlceras de grosor completo en el pie diabético.
Dermagraft Advanced BioHealing Inc., New York, NY and La Jolla, CA, USA		Cultivo de fibroblastos neonatales alogénicos.	Alogénico y sintético. Ácido poliglicólico, ácido poliláctico y matriz extracelular derivada de fibroblastos humanos.	
Dérmicos - Permanentes				
AlloDerm LifeCell Corporation, Branchburg, NJ, USA		Inexistente.	Alogénico. Dermis humana acelular liofilizada.	Quemaduras extensas de grosor parcial o total.
Karoderm Karocell Tissue Engineering AB, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden		Inexistente.	Alogénico. Dermis humana acelular	
SureDerm HANS BIOMED Corporation, Seoul, Korea		Inexistente.	Alogénico. Dermis humana acelular liofilizada.	
GraftJacket Wright Medical Technology Inc., Arlington, TN, USA		Inexistente.	Alogénico. Dermis humana acelular mallada.	

Nombre del sustituto y Empresa productora	Esquema del sustituto	Características del componente celular	Características del scaffold	Aplicaciones terapéuticas publicadas
Matriderm Dr Suwelack Skin and HealthCare AG, Billerbeck, Germany		Inexistente.	Xenogenético. Dermis liofilizada no reticulada bovina, revestida con un hidrolizado de α -elastina	Quemaduras de grosor parcial total.
Permacol Surgical Implant Tissue Science Laboratories plc, Aldershot, UK		Inexistente.	Xenogenético. Dermis porcina acelular reticulada de diisocianito.	Cobertura de heridas de grosor parcial limpias.
OASIS Wound Matrix Cook Biotech Inc., West Lafayette, IN, USA		Inexistente.	Xenogenético. Submucosa acelular liofilizada de intestino delgado porcino	Quemaduras de grosor parcial total y úlceras venosas o pie diabético.
Integra Dermal Regeneration Template Integra NeuroSciences, Plainsboro, NJ, USA		Inexistente.	Xenogenético y sintético. Polisiloxano, colágeno tendinoso reticulado bovino y glucosaminoglicanos.	Quemaduras de grosor parcial o completo.
Terudermis Olympus Terumo Biomaterial Corp., Tokyo, Japan		Inexistente.	Xenogenético y sintético. Silicona y esponja de colágeno desnaturalizado reticulado y liofilizado bovino.	
Pelnac Standard/Pelnac Fortified Gunze Ltd, Medical Materials Center, Kyoto, Japan		Inexistente.	Xenogenético y sintético. Silicona/silicona fortificada con gasa TRES y atelocolágeno derivado tendón de cerdo.	
Hyalomatrix PA Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, Italy		Inexistente.	Alogénico y sintético. Derivado de hialuronano en capas sobre membrana de silicona.	Quemaduras de segundo grado. Úlceras de presión y pie diabético.
Hyalograft 3D Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, Italy		Cultivo de fibroblastos autólogos.	Alogénico. Membrana microperforada de ácido hialurónico.	Heridas de grosor parcial o completo.

Nombre del sustituto y Empresa productora	Esquema del sustituto	Características del componente celular	Características del scaffold	Aplicaciones terapéuticas publicadas
Dermoepidérmicos - Temporales				
Allograft (cadaveric) from not for profit skin banks		Aloinjerto de donante cadáver con células dérmicas y epidérmicas.	Aloinjerto de donante cadáver con células dérmicas y epidérmicas.	
Karoskin Karocell Tissue Engineering AB, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden		Aloinjerto de donante cadáver con células dérmicas y epidérmicas.	Aloinjerto de donante cadáver con células dérmicas y epidérmicas.	
Apligraf Organogenesis Inc., Canton, Massachusetts, CA, USA		Cultivo de queratinocitos y fibroblastos alogénicos.	Xenogénico. Colágeno bovino	Úlceras venosas y pie diabético.
OrCel Ortec International Inc., New York, NY, USA		Cultivo de queratinocitos y fibroblastos alogénicos.	Xenogénico. Esponja de colágeno bovino.	Heridas provocadas para la obtención de autoinjertos y epidermolisis bullosa.
PolyActive HC Implants BV, Leiden, The Netherlands		Cultivo de queratinocitos y fibroblastos autólogos.	Sintético. Tereftalato de óxido de polietileno/ tereftalato de polibutileno	
Dermoepidérmicos - Permanentes				
TissueTech Autograft System (Laserskin and Hyalograft 3D) Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, Italy		Cultivo de queratinocitos y fibroblastos autólogos.	Recombinante. Membrana microperforada de ácido hialurónico.	Quemaduras de grosor parcial o completo y úlceras crónicas.