

ORIGINAL

Uso de biomateriales en medicina regenerativa, aspectos básicos y aplicaciones en el Sistema Nervioso

Use of biomaterials in regenerative medicine, basic aspects and applications in the Nervous System

Soria J M ^{1,5}, Barcia-González J ¹, Andrades J A ³, Romero J ¹, Monleón Pradas M ⁴, García-Verdugo J M ^{2,5}

¹ Facultad Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, ² Instituto Cavanilles. Universidad de Valencia, ³ Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. CIBER-BBN, ⁴ Centro de Biomateriales. Universidad Politécnica de Valencia. CIBER-BBN, ⁵ CIBER-NED de Enfermedades Neurodegenerativas, Valencia

Esta investigación ha sido financiada parcialmente por FUNDACIÓN MAPFRE

Resumen

Objetivo: Analizar algunos de los aspectos físico-químicos y estructurales más importantes en el diseño de biomateriales destinados a la reparación tisular con un enfoque hacia su posible utilidad y potencialidad en el sistema nervioso.

Diseño: Se analizan diversos estudios enfocados a la síntesis y diseño de biomateriales destinados a la reconstrucción tisular a partir de matrices porosas, sistemas nanoestructurados y combinación de biomateriales y células madre con fines regenerativos.

Conclusiones: La práctica en el empleo de biomateriales con fines regenerativos constituye hoy día un hecho evidente y un gran desafío para la medicina neuroregenerativa.

Palabras clave:

Biomateriales, sistema Nervioso Central, células troncales.

Abstract

Objective: To analyze some of the physical-chemical and structural most important aspect in the design of biomaterials for tissue repair with an approach to its possible usefulness in the nervous system.

Design: We analyzed several studies regarding the synthesis and design of biomaterials for tissue reconstruction by using porous scaffolds, nanostructured systems, and combination of biomaterials and stem cells.

Conclusions: Nowadays the use of biomaterials for regenerative processes is an evident fact, and a great challenge for neuroregenerative medicine.

Keywords:

Biomaterials, central nervous system, stem cells.

Introducción

El término biomaterial designa a aquellos materiales utilizados en la fabricación de dispositivos que interactúan con sistemas biológicos y que se aplican en diversas ramas de la medicina. Entre las características de los materiales no puede faltar la de ser biocompatibles, o biológicamente acepta-

bles. De este modo, en la evaluación de un material resulta fundamental evaluar su biocompatibilidad y capacidad de reabsorción, ya que permanecen en contacto con los tejidos vivos, por lo que resulta imprescindible que no se produzcan reacciones no deseadas en la interfaz tejido-material y que mantengan sus prestaciones durante el tiempo que tengan que desempeñar su función [1,2].

En la actualidad, el uso de biomateriales con fines regenerativos está ampliamente extendido en el campo de la biomedicina. La aplicación de polímeros sintéticos y naturales comienza a ser frecuente para el tratamiento de las heridas,

Correspondencia

J. M. Soria
Facultad Ciencias de la Salud, Univ CEU- Cardenal Herrera
Moncada 46113 (Valencia)
jose.soria@uch.ceu.es

los sistemas de liberación de fármacos, los injertos vasculares o la reconstrucción de tejidos. Del mismo modo, el empleo de biomateriales en el ámbito quirúrgico es múltiple y variado. En los implantes permanentes del sistema esquelético muscular, como las uniones en las extremidades superiores e inferiores o como miembros artificiales permanentes; en el sistema cardiovascular, en las válvulas, pared, marcapasos, corazón entero, arterias y venas; en el sistema respiratorio para la laringe, tráquea y bronquios, diafragma, pulmones y caja torácica; en el aparato digestivo, esófago, conductos biliares e hígado; en el sistema genitourinario; en sistema nervioso y de los sentidos, con las lentes y prótesis de córneas, oídos y marcapasos, e incluso para implantes cosméticos maxilofaciales. Actualmente, los esfuerzos de la investigación persiguen conocer las interacciones específicas entre las propiedades físico-químicas del material, química de la superficie, hidrofobia, propiedades mecánicas, la absorción isotérmica de ciertas proteínas y la observación de comportamientos celulares, como la adhesión, activación, liberación de citoquinas y factores de crecimiento.

En terapia celular, algunos grupos observan la generación de nuevos vasos sanguíneos en torno a la matriz o en su interior y, favoreciendo el ambiente apropiado, desempeñan un papel regenerativo [3]. De este modo se plantea la inducción la prevascularización en el lugar del trasplante celular aportando oxígeno y nutrientes a las células implantadas en el huésped.

El creciente interés por diseñar nuevos biomateriales compatibles con el sistema nervioso, es un objetivo prioritario de la ingeniería tisular. No obstante, el diseño y evaluación de nuevos biomateriales destinados a estrategias neuroregenerativas requiere una especial atención dada la complejidad del sistema nervioso. En este trabajo tratamos diversos aspectos de crucial interés en el diseño y propiedades de los biomateriales con fines regenerativos.

1. Tipos de biomateriales

En la actualidad existe una gran cantidad de biomateriales diferentes que según su composición se pueden clasificar en biomateriales metálicos, biomateriales cerámicos o biomateriales polímeros naturales o sintéticos (Tabla 1).

En el caso de los biomateriales metálicos (aleaciones de cobalto, cromo, titanio, aluminio, etc.) la corrosión es un problema general [4], más aún si están integrados en un medio con un alto contenido hídrico como es el organismo y a temperaturas de 37° C por lo que se buscan nuevas técnicas de procesamiento para maximizar las propiedades mecánicas de las aleaciones disponibles y lograr que sus superficies tengan texturas adecuadas para inducir la respuesta biológica deseada.

Para hacer frente a la corrosión se dispone de los materiales cerámicos que poseen una baja reactividad química que les confiere, en la mayoría de los casos, un carácter inerte y que conlleva una adecuada biocompatibilidad. Entre los

Tabla 1. Características y aplicaciones en los diferentes tipos de materiales utilizados en clínica.

Material	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
POLÍMEROS	Elásticos, fáciles de fabricar, baja densidad.	Baja resistencia mecánica, degradación con el tiempo.	Suturas, arterias, venas, nariz, dientes, tendones ...
METALES	Resistencia a esfuerzos de alto impacto, alta resistencia al desgaste.	Baja compatibilidad, corrosión en medios fisiológicos, alta densidad, pérdida de propiedades mecánicas con tejidos conectivos suaves.	Fijación ortopédica: tornillos, clavos, placas, barras intermedulares.
CERÁMICAS	Buena biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, inerte.	Fractura ante esfuerzos de alto impacto, difícil fabricación, baja resistencia mecánica, no elásticos, alta densidad.	Prótesis de cadera, dientes, dispositivos transcutáneos.
COMPUESTOS	Buena compatibilidad, inertes, resistencia a la corrosión, alta resistencia a los esfuerzos.	Carecen de consistencia en la fabricación del material.	Válvulas cardíacas, marcapasos, uniones óseas.

materiales cerámicos más estudiados, se encuentran los biovidrios y la hidroxiapatita, empleados sobre todo en la reparación de huesos por su eficiente integración con el tejido vivo. En la actualidad se desarrollan cementos quirúrgicos que contienen rellenos cerámicos que además mejora el proceso de fijación y estabilización del implante a largo plazo, ya que promueve la diferenciación celular e induce la formación de depósitos de hidroxiapatita proveniente del medio biológico en la zona de contacto entre cemento y hueso, favoreciendo así el crecimiento de tejido nuevo [5-7].

Sin embargo, los biomateriales más versátiles y que cuentan por su gran variedad de compuestos son los llamados polímeros que pueden estar formados por una gran cantidad de productos (poliestireno, nylon, fibrinógeno, colágeno, hidrogeles, etc.) y también ofrecen la posibilidad de ser manipulados de muy distintas maneras, con unas características físico-químicas bien determinadas. De este modo, los polímeros pueden presentarse como fibras, tejidos, películas o bloques [8-11]. Por todo ello, son los componentes más utilizados en la fabricación de dispositivos biomédicos. Entre los campos de estudio actual cabe mencionar el desarrollo de polímeros bioabsorbibles [11-13] aquellos que son degradados en el medio biológico y sus productos de degradación son eliminados mediante la actividad celular. Este tipo de materiales, pueden ser incluso utilizados como soporte de células vivas, en el reemplazo de tejidos, ya sean duros o blandos, e incluso en piezas y dispositivos para la fijación de fracturas óseas.

Otra utilidad de máximo interés en el empleo de este tipo de biomateriales son los sistemas de liberación controlada de drogas o fármacos. En este campo, uno de los temas que suscita gran interés es el diseño de materiales híbridos, formados por la combinación de materiales poliméricos sintéticos y naturales [14] con múltiples aplicaciones, entre las que se pueden mencionar la generación de biosensores capaces de reconocer señales químicas [15] o los sistemas de liberación controlada de drogas. Otro campo de gran interés en la actualidad es el diseño de biomateriales poliméricos con superficies modificadas que contengan en su interior, o en superficie, moléculas capaces de interaccionar de forma específica con el medio biológico [16].

2. Características específicas de los biomateriales

Es preciso conjugar armoniosamente una serie de elementos como las características químicas, físicas y la textura de la superficie del implante, su forma y diseño, como también la solubilidad y alta reactividad de la superficie a implantar, la presencia de bacterias en el medio de implante, el pH, los fluidos intercelulares y los factores biomecánicos. En este

sentido, los materiales destinados a la fabricación de implantes deben reunir una serie de propiedades biológicas, físicas, químicas y mecánicas específicas.

a. Propiedades biológicas

Cualquier material implantado en el organismo no debe provocar reacciones adversas que impidan obtener el efecto deseado; es decir, el material debe ser biocompatible. Por tanto para evaluar un biomaterial compatible, es necesario tener en cuenta una serie de factores:

- Los componentes deben de ser derivados de fuentes biológicas.
- Las unidades básicas deben ser tratables para modificar el diseño y así lograr necesidades específicas.
- Exhibir un grado controlado de degradación del material.
- No ser citotóxico.
- Poseer propiedades que promuevan las interacciones célula-sustrato.
- Producir la mínima respuesta inmune e inflamatoria.
- Fácil y reproducible la producción, la purificación y el procesamiento del material.
- Compatible químicamente con soluciones acuosas y condiciones fisiológicas.
- Facilitar el crecimiento del tejido.
- Permanecer estable en la localización implantada durante un periodo de tiempo largo como para permitir la reparación del tejido. Esto implica mínima repuesta inflamatoria y degradación relativamente lenta.

b. Propiedades físico - químicas:

Los materiales pueden presentar diversas alteraciones superficiales como son la corrosión, la solubilización de algunos componentes o su desintegración en función del tiempo. De este modo el material debe poseer un apropiado grado de degradación para asegurar el mantenimiento de una estructura necesaria desde el momento de implante hasta que el nuevo tejido formado sustituya al soporte. En este sentido es bien conocido el aumento en la degradación de un material dependiendo de la porosidad del mismo [17].

Algunas de las propiedades físico - químicas más importantes de los biomateriales son la cristalinidad, el comportamiento térmico, el comportamiento mecánico y la resistencia a la degradación química en general.

El concepto de cristalinidad de un polímero no es similar al que se utiliza en materiales metálicos o cerámicos. Estos compuestos son muy cristalinos y presentan un gran orden a larga distancia. Este no suele ser el caso de la mayoría de los materiales poliméricos donde el orden principal es en el

empaquetamiento entre cadenas poliméricas. En el caso del comportamiento térmico hay que distinguir tres temperaturas, la de fusión, la de descomposición y la de transición vítrea.

c. Propiedades mecánicas

Los materiales seleccionados como implantes deben poseer unas propiedades mecánicas adecuadas como son la rigidez, porosidad, interconectividad y tamaño de poros, superficie específica, permeabilidad y rugosidad del sustrato. Las características de la superficie del implante: rugosidad, grado de pulido, porosidad, potencial eléctrico, humectación y comportamiento hidrofóbico o hidrófilo, son factores decisivos que afectan su compatibilidad y determinarán la interacción del implante con las células adyacentes y su capacidad de colonizar su superficie.

La rigidez de un implante indica la mayor o menor deformación que experimenta ante la aplicación de cargas y se determina mediante el módulo de elasticidad. En este sentido, un estudio *in vitro* [18] en el cual se cultivaron células de origen neural sobre biomateriales de distinta rigidez demostró que existía una predisposición por parte de las neuronas para crecer sobre sustratos flexibles, mientras que los astrocitos se extendían y se adherían mejor a sustratos más rígidos. La rigidez mecánica, puede afectar a procesos de locomoción celular, morfología, adhesión celular e incluso a la expresión de ciertas proteínas del citoesqueleto. La tensión que la célula es capaz de establecer depende de las propiedades inherentes de la matriz; una matriz relativamente rígida soportará una fuerza celular mayor que otra más blanda, favoreciendo que la célula se extienda sobre su periferia. No todos los tipos celulares parecen ser sensibles a la rigidez del sustrato, y no todos los tipos celulares mecano-sensitivos responden de forma similar a los cambios en la rigidez del sustrato. Muchas células estudiadas se extienden, se adhieren y sobreviven mejor en matrices rígidas, mientras que en otros casos lo hacen sobre matrices blandas (<50Pa).

Otras propiedades estructurales a considerar en el diseño de biomateriales son la porosidad, la interconectividad y el tamaño de poros, así como la anisotropía, la permeabilidad y la superficie específica. Estas características influyen tanto sobre las propiedades mecánicas del andamiaje como en su funcionalidad biológica. Una elevada porosidad y superficie específica son indispensables para la uniformidad del crecimiento celular y para conseguir una adherencia adecuada de los tejidos neoformados. Una alta porosidad facilita la acomodación de muchas células, así como la presencia de poros interconectados facilita la distribución uniforme de las células y la difusión de oxígeno y nutrientes

[19]. Sin embargo, una matriz con porosidad elevada también posee una resistencia mecánica muy baja. Por ello es necesario encontrar un equilibrio entre difusión en el interior de la matriz y las propiedades mecánicas del mismo.

Por otro lado, una de las características que determina la biocompatibilidad de un sustrato es su grado de hidrofilia o hidrofobia que se determina por medidas del ángulo de contacto. El ángulo de contacto a menudo se toma como parámetro indicativo de la humectabilidad de la superficie de un material y correlaciona los fenómenos de interacción que ocurren con el medio biológico. Diversos estudios sobre la proliferación celular en biomateriales poliméricos (PLA o ácido poliláctico; PGA o ácido poliglicólico y PLGA o ácido poliláctico-glicólico) demostraron que se produce una mayor adhesión celular cuando la hidrofilia era moderada o ligeramente hidrofóbica [20,21].

Por otro lado, el acabado final y la textura de una superficie también influye para definir la capacidad de desgaste, resistencia a la fatiga y aspecto externo de un material, por lo que la rugosidad es un factor importante a tener en cuenta en la adhesión, proliferación y diferenciación celular [22,23]. Para evaluar las diferencias de rugosidad se emplean, entre otras, técnicas como la microscopía electrónica de barrido y la microscopía óptica interferométrica.

3. Uso combinado de células troncales y biomateriales

Recientemente se han realizado numerosos estudios enfocados al uso combinado de células sobre biomateriales con fines regenerativos. Las células troncales o células madre son aquellas células dotadas simultáneamente de la capacidad de autorrenovación (es decir, producir nuevas células troncales) y de originar líneas celulares diferentes (capacidad potencial de dar lugar a unos 220 tipos celulares diferentes, los cuales constituyen el cuerpo humano). Aunque es aún objeto de estudio y discusión, las características que debe cumplir una célula troncal para ser utilizada en terapias celulares son:

- Ser pluripotente, es decir, generar cualquier tipo de célula que constituya parte del organismo adulto.
- Tener capacidad de proliferar, es decir, de autorrenovarse de forma indefinida.
- Poseer un fenotipo estable, bien caracterizado desde el punto de vista molecular.
- Carecer de potencial tumorigénico.
- Ser susceptible de manipulación genética, para permitir modificaciones genómicas precisas, incluyendo la introducción de genes terapéuticos.

Las células troncales de embrión se diferencian para dar una gran variedad de tipos celulares (células endoteliales,



cardiomiocitos, neuronas y células gliales, células musculares...) [24-26]. Sin embargo existen una serie de obstáculos para que ocurra una adecuada reparación de forma endógena del tejido nervioso con estos precursores, como son la limitación en el número de precursores pues para abordar una estrategia neuroregenerativa habría que conseguir una proliferación de células precursoras adecuadas capaces de aportar en una zona lesionada suficientes células para una adecuada repoblación. Una vez implantadas las células precisan de la supervivencia y diferenciación celular pues deben ser capaces de diferenciarse *in situ* en el linaje requerido, sobrevivir en ese ambiente e integrarse para asistir a una restauración funcional.

Sin duda, el uso de células troncales en estrategias regenerativas es uno de los campos de mayor interés aunque, en ocasiones, es necesario combinar biomateriales con células para asistir a una adecuada estrategia regenerativa. Este es el motivo por el que muchos grupos de investigación intentan desarrollar biomateriales compatibles mediante estudios *in vitro* e *in vivo*. Durante los últimos años han aparecido numerosos estudios utilizando diferentes tipos celulares, cultivados sobre diversos tipos de sustratos para entender determinados mecanismos de interacción y que suponen un avance en el campo de la terapia celular [27-30,38]. En este sentido, cada vez existen más estudios que intentan determinar procesos cruciales como la proliferación, supervivencia y diferenciación de células troncales nerviosas sobre biomateriales compatibles. Recientemente se ha observado que biomateriales basados en determinadas combinaciones de los polímeros HEA y EA, pueden constituir un sustrato adecuado para la supervivencia proliferación y diferenciación *in vitro* de células troncales adultas procedentes de roedores así como para la constitución de nuevas redes neurales fisiológicamente activas [31].

4. Aplicación de biomateriales en el Sistema Nervioso con fines regenerativos

La aplicación de biomateriales en el sistema nervioso central está cada vez más extendida aunque existen numerosos problemas. Así, el tratamiento quirúrgico de las lesiones de los nervios periféricos se enfrenta a un gran problema cuando se trata de conectar nervios seccionados, mediante la utilización de injertos a modo de puentes que superan longitudes superiores a 10 mm. En los últimos años, se han utilizado diferentes matrices biogénicas con el fin de crear un ambiente favorable para la regeneración del nervio. La fibronectina o las matrices de colágeno han demostrado que favorecen los procesos de regeneración y reconstrucción del nervio periférico [32]. Una alternativa para la regeneración

del nervio ha sido el uso de biomateriales sintéticos que favorezcan el crecimiento axonal como los filamentos de ácido poliglicólico combinado con laminina (LN) o colágeno, y los materiales sintéticos basados en poli(glicerol sebacato) para apoyar el crecimiento axonal con la reducción de la formación de cicatrices. Sin embargo, cuando se trata de establecer puentes que unan largas distancias (>10 mm) no se han obtenido resultados satisfactorios. En este sentido, se ha propuesto que el fracaso en esta estrategia podría ser una combinación de diversas razones, como la ausencia de factores neurotróficos entre las uniones proximal y distal o la ausencia de las células de Schwann (SCs) [33] y diferentes grupos han demostrado que realizando una siembra previa de células de Schwann en injertos artificiales mejoran los resultados en las estrategias de regeneración del nervio [33-35], y que el cultivo de este tipo de células en diferentes matrices acelulares o sustratos sintéticos podría proporcionar un ambiente adecuado para favorecer la capacidad de regeneración axonal. La búsqueda de biomateriales que favorezcan la supervivencia celular y la proliferación de este tipo celular tiene un gran interés ya que los injertos de nervios sintéticos formados por biomateriales sembrados con células de Schwann *in vitro* podrían ser una alternativa prometedora para la reparación de las lesiones del nervio periférico.

En la actualidad uno de los biomateriales más utilizados en biomedicina es el quitosán, el cual se presenta en forma de quitina, total o parcialmente desacetilado, siendo la segunda forma más abundante de carbono que se encuentra en la naturaleza [36]. La capacidad del quitosán de formar películas o soportes ha permitido su aplicación dentro de los campos de ingeniería de tejidos, debido tanto a sus propiedades mecánicas como a su baja tasa de biodegradación. Además, los soportes de quitosán pueden servir para mantener, reforzar y en algunos casos organizar la regeneración tisular. Su utilización en estrategias regenerativas está suficientemente documentada; así en un estudio de axotomía del nervio periférico en perros se seleccionó este sustrato como matriz para la fabricación de cámaras de crecimiento axónico, que incluyeron un neuroesteroide (progesterona) como promotor del crecimiento [37].

Uno de los primeros objetivos en terapia celular nerviosa es la evaluación de materiales compatibles, capaces de favorecer una mínima orientación para la reconstrucción de zonas dañadas. Resultados recientes han mostrado el comportamiento de células madre neurales de corteza cerebral de rata embrionaria sobre dos sustratos, el polivinil alcohol (PVA) y el poli(etileno-co-vinil alcohol) (EVAL), mostrando su capacidad para influir sobre la diferenciación y proliferación tras el cultivo *in vitro* y dependiendo de factores co-

mo la densidad celular [38]. Estos resultados *in vitro* resultan alentadores para el desarrollo de estrategias destinadas a la preservación, proliferación y diferenciación de células madre neuronales, influyendo directamente las propiedades del biomaterial en determinadas funciones celulares.

No obstante, a pesar de una excelente respuesta *in vitro* por parte de diversos biomateriales, en términos de supervivencia y diferenciación celular, es necesario el estudio *in vivo* relacionado con procesos de rechazo y gliosis en el sistema nervioso central. En este sentido, biomateriales basados en poli(epsilon-caprolactona) (PCL) y poli(L-lactico-co-ácido glicólico) (PLGA), biodegradables y acanalados, se implantaron en la corteza cerebral de ratas adultas, estudiándose la respuesta astrocitaria que producían en el tejido tras el implante y se concluyó que aquellos biomateriales basados en PCL producían una menor respuesta inflamatoria que los derivados del PLGA, convirtiéndose en buenos candidatos para su uso *in vivo* [39,40]. Otros estudios han destacado el uso de hidrogeles en lesiones cerebrales producidas por tracción. Biomateriales basados en ácido hialurónico (HA) implantados en corteza cerebral mostraron, tras 12 semanas de implante, que eran capaces de mantener propiedades mecánicas y comportamientos reológicos similares al tejido cerebral. Estos hidrogeles actuaron como un andamiaje que soportaba la infiltración celular y los procesos angiogénicos, inhibiendo la cicatriz glial [41].

Sin embargo, el estudio desarrollado por el grupo de Park [42] con biomateriales basados en ácido poliglicólico (PGA) tras ser sembrados con células madre neurales (NSCs) fueron implantados en la corteza cerebral del ratón con lesión isquémica focal. Doce semanas después se observó la aparición de un complejo circuito de numerosas neuritas arborizadas procedente de neuronas derivadas del huésped y del donante. Además, se reconstituyeron algunas conexiones anatómicas. De este modo se demuestra la existencia de nuevas interacciones entre las NSCs implantadas y el parénquima cortical del huésped, facilitándose la reconstitución del tejido lesionado.

Siguiendo un criterio basado en estudios en paralelo *in vivo* e *in vitro*, materiales poliméricos formados por etil acrilato (EA) e hidroxietil acrilato (HEA) han sido evaluados recientemente con fines neuroregenerativos [31,43] observándose su viabilidad para generar vasos sanguíneos en el interior de la matriz. De este modo, pasadas 8 semanas desde su implante en la corteza cerebral de roedores, se observaron numerosos vasos sanguíneos generados en el interior del implante que fueron circundados por células neurales cuando estaba en la cercanía de nichos neurales como la zona subventricular [44].

Constituye un gran reto el empleo de biomateriales con fines regenerativos así como el uso combinado de células troncales con biomateriales compatibles en el sistema nervioso central. En este sentido, y a través de gran cantidad de estudios, se intentan comprender mecanismos cada vez más complejos relativos a la interacción entre substrato y célula, ya que de ello dependen una gran infinidad de procesos celulares como la adhesión celular, la supervivencia celular, la proliferación, la diferenciación o la migración celular.

Por otro lado, con el fin de asistir estrategias regenerativas, los biomateriales deben presentar en todo momento un sistema compatible, lo que significa que sea aceptado por un tejido hospedador sin evidentes signos de inflamación o rechazo. Como se pone de manifiesto, el uso de biomateriales con fines regenerativos comienza a ser considerado una seria alternativa en terapia celular y constituye un serio reto para la medicina neuro-regenerativa. ■

Agradecimientos

Este trabajo ha sido desarrollado gracias a la ayuda de FUNDACIÓN MAPFRE, Red TerCel (Instituto de Salud Carlos III), y Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (201.1.2/04)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atzei A, Calcagni M, Breda B, Fasolo G, Pajardi G, Cugola L. Clinical evaluation of a hyaluronan-based gel following microsurgical reconstruction of peripheral nerves of the hand. *Microsurgery* 2007; 27:2-7.
2. Yeo A, Rai B, Sju E, Cheong JJ, Teoh SH. The degradation profile of novel, bioresorbable PCL-TCP scaffolds: An *in vitro* and *in vivo* study. *J Biomed Mater Res A* 2008; 84:208-18.
3. McCloskey KE, Gilroy ME, Nerem RM. Use of embryonic stem cell-derived endothelial cells as a cell source to generate vessel structures *in vitro*. *Tissue Eng* 2005; 11:497-505.
4. Oh SH, Kang SG, Lee JH. Degradation behavior of hydrophilized PLGA scaffolds prepared by melt-molding particulate-leaching method: comparison with control hydrophobic one. *J Mater Sci Mater Med* 2006; 17:131-7.
5. Laczka-Osyczka A, Laczka M, Kasugai S, Ohya K. Behavior of bone marrow cells cultured on three different coatings of gel-derived bioactive glass-ceramics at early stages of cell differentiation. *J Biomed Mater Res* 1998; 42:433-42.
6. Rumpel E, Wolf E, Kauschke E, Bienengraber V, Bayerlein T, Gedrange T, et al. The biodegradation of hydroxyapatite bone graft substitutes *in vivo*. *Folia Morphol* 2006; 65:43-8.

7. Vallet-Regi M. Revisiting ceramics for medical applications. *Dalton Trans* 2006; 44:5211-20.
8. Day RM, Boccaccini AR, Shurey S, Roether JA, Forbes A, Hench LL, et al. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. *Biomaterials* 2004; 25:5857-66.
9. Sanders JE, Lamont SE, Karchin A, Golledge SL, Ratner BD. Fibro-porous meshes made from polyurethane micro-fibers: effects of surface charge on tissue response. *Biomaterials* 2005; 26:813-8.
10. Yuan Y, Zhang P, Yang Y, Wang X, Gu X. The interaction of Schwann cells with chitosan membranes and fibers in vitro. *Biomaterials* 2004; 25:4273-8.
11. Burks CA, Bundy K, Fotuhi P, Alt E. Characterization of 75:25 poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone) thin films for the endoluminal delivery of adipose-derived stem cells to abdominal aortic aneurysms. *Tissue Eng* 2006; 12:2591-600.
12. Cai DZ, Zeng C, Quan DP, Bu LS, Wang K, Lu HD, et al. Biodegradable chitosan scaffolds containing microspheres as carriers for controlled transforming growth factor-beta1 delivery for cartilage tissue engineering. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120:293.
13. Li X, Liu KL, Li J, Tan EP, Chan LM, Lim CT, et al. Synthesis, characterization, and morphology studies of biodegradable amphiphilic poly [(R) -3-hydroxybutyrate]-alt-poly(ethylene-glycol) multiblock copolymers. *Biomacromolecules* 2006; 7:3112-9.
14. Raghunath J, Rollo J, Sales KM, Butler PE, Seifalian AM. Biomaterials and scaffold design: key to tissue-engineering cartilage. *Biotechnol Appl Biochem* 2007; 46:73-84.
15. Wang HS, Li TH, Jia WL, Xu HY. Highly selective and sensitive determination of dopamine using a Nafion/carbon nanotubes coated poly(3-methylthiophene) modified electrode. *Biosens Bioelectron* 2006; 22:664-9.
16. Silva GA, Coutinho OP, Ducheyne P, Shapiro IM, Reis RL. Starch-based microparticles as vehicles for the delivery of active platelet-derived growth factor. *Tissue Eng* 2007; 13:1259-68.
17. Georges PC, Miller WJ, Meaney DF, Sawyer ES, Janmey PA. Matrices with compliance comparable to that of brain tissue select neuronal over glial growth in mixed cortical cultures. *Biophys J* 2006; 90:3012-8.
18. Georges PC, Janmey PA. Cell type-specific response to growth on soft materials. *J Appl Physiol* 2005; 98:1547-53.
19. Gong S, Wang H, Sun Q, Xue ST, Wang JY. Mechanical properties and in vitro biocompatibility of porous zein scaffolds. *Biomaterials* 2006; 27:3793-9.
20. Nisbet DR, Pattanawong S, Nunan J, Shen W, Horne MK, Finkelstein DI, et al. The effect of surface hydrophilicity on the behavior of embryonic cortical neurons. *J Colloid Interface Sci* 2006; 299:647-55.
21. Soria JM, Martínez Ramos C, Bahamonde O, García Cruz DM, Salmerón Sánchez M, Barcia JA, et al. Influence of the substrate's hydrophilicity on the in vitro Schwann cells viability. *J Biomed Mater Res A* 2007; 83:463-70.
22. Xu C, Yang F, Wang S, Ramakrishna S. In vitro study of human vascular endothelial cell function on materials with various surface roughness. *J Biomed Mater Res A* 2004; 71:154-61.
23. Wan Y, Wang Y, Liu Z, Qu X, Han B, Bei J, et al. Adhesion and proliferation of OCT-1 osteoblast-like cells on micro- and nano-scale topography structured poly(L-lactide). *Biomaterials* 2005; 26:4453-9.
24. Lopez Moratalla N, Gonzalez de la Tajada I. Human pluripotent stems cells. *Rev Med Univ Navarra* 2003; 47:34-42.
25. Passier R, Mummery C. Cardiomyocyte differentiation from embryonic and adult stem cells. *Curr Opin Biotechnol* 2005; 16:498-502.
26. Poliard A, Nifuji A, Lamblin D, Plee E, Forest C, Kellermann O. Controlled conversion of an immortalized mesodermal progenitor cell towards osteogenic, chondrogenic, or adipogenic pathways. *J Cell Biol* 1995; 130:1461-72.
27. Hung CH, Young TH. Differences in the effect on neural stem cells of fetal bovine serum in substrate-coated and soluble form. *Biomaterials* 2006; 27:5901-8.
28. Brown XQ, Ookawa K, Wong JY. Evaluation of polydimethylsiloxane scaffolds with physiologically-relevant elastic moduli: interplay of substrate mechanics and surface chemistry effects on vascular smooth muscle cell response. *Biomaterials* 2005; 26:3123-9.
29. Mahoney MJ, Anseth KS. Three-dimensional growth and function of neural tissue in degradable polyethylene glycol hydrogels. *Biomaterials* 2006; 27:2265-74.
30. Nisbet DR, Pattanawong S, Nunan J, Shen W, Horne MK, Finkelstein DI, et al. The effect of surface hydrophilicity on the behavior of embryonic cortical neurons. *J Colloid Interface Sci* 2006; 299:647-55.
31. Martínez-Ramos C, Lainez S, Sancho F, García Esparza MA, Planells-Cases R, García Verdugo JM, et al. Differentiation of postnatal neural stem cells into glia and functional neurons on laminin-coated polymeric substrates. *Tissue Eng Part A* 2008; 14:1365-75.
32. Keilhoff G, Stang F, Wolf G, Fansa H. Bio-compatibility of type I/III collagen matrix for peripheral nerve reconstruction. *Biomaterials* 2003; 24:2779-87.
33. Anselin AD, Fink T, Davey DF. Peripheral nerve regeneration through nerve guides seeded with adult Schwann cells. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1997; 23:387-98.



34. Rodriguez FJ, Verdu E, Ceballos D, Navarro X. Nerve guides seeded with autologous schwann cells improve nerve regeneration. *Exp Neurol* 2000; 161:571-84.
35. Wan Y, Wang Y, Liu Z, Qu X, Han B, Bei J, Wang S. Adhesion and proliferation of OCT-1 osteoblast-like cells on micro- and nano-scale topography structured poly(L-lactide). *Biomaterials* 2005; 26:4453-9.
36. Muzzarelli RA, Tanfani F, Scarpini G, Laterza G. The degree of acetylation of chitins by gas chromatography and infrared spectroscopy. *J Biochem Biophys Methods* 1980; 2:299-306.
37. Rosales M, Peregrina J, Bañuelos J, Castellanos EE, Gómez Pinedo U, Albarrán E. Regeneración del nervio ciático axotomizado del perro mediante la técnica de tubulización con el biomaterial quitosana precargado con progesterona. *Rev Neurol* 2003; 36:1137-41.
38. Young TH, Hung CH. Behavior of embryonic rat cerebral cortical stem cells on the PVA and EVAL substrates. *Biomaterials* 2005; 26:4291-9.
39. Chang CJ, Hsu SH, Yen HJ, Chang H, Hsu SK. Effects of unidirectional permeability in asymmetric poly(DL-lactic acid-co-glycolic acid) conduits on peripheral nerve regeneration: an in vitro and in vivo study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 83:206-15.
40. Wong DY, Hollister SJ, Krebsbach PH, Nosrat C. Poly(epsilon-caprolactone) and poly(L-lactic-co-glycolic acid) degradable polymer sponges attenuate astrocyte response and lesion growth in acute traumatic brain injury. *Tissue Eng* 2007; 13:2515-23.
41. Hou S, Xu Q, Tian W, Cui F, Cai Q, Ma J et al. The repair of brain lesion by implantation of hyaluronic acid hydrogels modified with laminin. *J Neurosci Methods* 2005; 148: 60-70.
42. Park KI, Teng YD, Snyder EY. The injured brain interacts reciprocally with neural stem cells supported by scaffolds to reconstitute lost tissue. *Nat Biotechnol* 2002; 20:1111-7.
43. Soria JM, Martinez Ramos C, Salmeron M, Benavent V, Campillo A, Gomez Ribelles JL, et al. Survival and differentiation of embryonic neural explants on different biomaterials. *J Biomed Mater Res A* 2006; 79:495-502.

Conflicto de intereses

Los autores no hemos recibido ayuda económica alguna para la realización de este trabajo. Tampoco hemos firmado ningún acuerdo por el que vayamos a recibir beneficios u honorarios por parte de alguna entidad comercial. Ninguna entidad comercial ha pagado, ni pagará, a fundaciones, instituciones educativas u otras organizaciones sin ánimo de lucro a las que estamos afiliados.