

Abou-Kheir, Nohelia; Rojas, Lola; Bracho, Joel; Noris-Suárez, Karem; Mohtar, Nadia
Estudio de biocompatibilidad de membranas ultradelgadas de quitosano como
sustituto dérmico, empleando células madre mesenquimales y queratinocitos
Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana, vol. 44, núm. 1, 2018, Febrero, pp. 7-12
Sociedad Española de Cirugía Plástica, Reparadora y Estética (SECPRE)

DOI: 10.4321/S0376-78922018000100003

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=365558088003>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

Estudio de biocompatibilidad de membranas ultradelgadas de quitosano como sustituto dérmico, empleando células madre mesenquimales y queratinocitos

Biocompatibility study of ultrathin membranes of chitosan as a dermal substitute, using mesenchymal stem cells and keratinocytes



Abou Kheir, N.

Nohelia ABOU-KHEIR*, Lola ROJAS**, Joel BRACHO*, Karem NORIS-SUÁREZ***,
Nadia MOHTAR****

Resumen

Introducción y Objetivo. Existe una importante demanda mundial para desarrollar sustitutos biológicos que restaren, mantengan o mejoren la función tisular, basándose en el uso combinado de biomateriales que funcionen como andamios y empleando células que induzcan regeneración para reparar los tejidos lesionados o enfermos.

El objetivo de este estudio es cultivar y caracterizar células epidermicas y mesenquimales de gelatina de Wharton sobre matrices de quitosano ultradelgadas con la finalidad de evaluar la biocompatibilidad y su potencial uso como sustitutos dérmicos.

Material y Método. Empleamos 2 modelos celulares de origen humano previo consentimiento informado de los donantes sanos, células madre mesenquimales obtenidas a partir de gelatina de Wharton y células epidérmicas aisladas mediante digestión con dipasa de muestras de piel. Sembramos ambos tipos celulares en proporción de 5.000 cel/cm² y evaluamos la adhesión celular por método cuantitativo CellTiter 96® (MTS) y cualitativamente empleando marcaje con DAPI de los núcleos celulares.

Resultados. Logramos establecer cultivos homogéneos de ambos tipos celulares, queratinocitos y células madre mesenquimales a partir de gelatina de Wharton. Los dos tipos celulares mostraron una apropiada adhesión celular y viabilidad, tanto por el ensayo de MTS como por la evaluación cualitativa con DAPI, sobre las membranas ultradelgadas de quitosano.

Conclusiones. Demostramos que las membranas de quitosano pueden emplearse como soportes apropiados para estos tipos celulares, los cuales podrían utilizarse como apóstoles dérmicos vivos en el tratamiento de úlceras crónicas y quemaduras, ya que el sistema combina las propiedades regenerativas y bacteriostáticas del quitosano con el alto potencial regenerativo cutáneo que presentan tanto las células madre mesenquimales como las células epidérmicas.

Abstract

Introduction and Objective. There is an important worldwide demand to develop biological substitutes that restore, maintain or improve tissue function based on the combined use of biomaterials that function as scaffolds, using cells that induce regeneration, to repair injured or diseased tissues.

Our objective is to culture and characterize the Wharton gelatin epidermal and mesenchymal cells on ultrathin chitosan matrices in order to evaluate the biocompatibility and its potential use as dermal substitutes.

Methods. Two cellular models of human origin were used with the prior informed consent of healthy donors, mesenchymal stem cells obtained from Wharton's gelatin and epidermal cells, isolated by digestion with dispase of skin samples. Both cell types planted at a rate of 5,000 cel/cm² and cell adhesion was evaluated by the quantitative CellTiter 96® (MTS) method and qualitatively using the DAPI labeling of the cell nuclei.

Results. Through this study, homogenous cultures of both cell types, keratinocytes and mesenchymal stem cells were established. The 2 cell types showed an appropriate cellular adhesion and viability on the ultrathin membranes of chitosan, both by the MTS assay and by the qualitative evaluation with DAPI.

Conclusions. It was demonstrated that chitosan membranes can be used as appropriate supports for these cell types, which could be used as living dermal dressings in the treatment of chronic ulcers and burns, since the system combines the regenerative and bacteriostatic properties of chitosan with high cutaneous regenerative potential presented by both mesenchymal stem and epidermal cells.

Palabras clave	Células epidérmicas, Células madre mesenquimales, Quitosano, Gelatina Wharton, Sustituto dérmico.
Nivel de evidencia científica	3 Terapéutico
Recibido (esta versión)	20 febrero/2018
Aceptado	8 marzo/2018

Key words	Epidermal cells, Mesenchymal stem cells, Chitosan, Jelly Wharton, Dermal substitute.
Level of evidence	3 Therapeutic
Received (this version)	20 february/2018

Accepted 8 march/2018

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún interés financiero relacionado con el contenido de este artículo.

* Cirujano Plástico. Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva, Hospital Carlos J. Bello, Cruz Roja Venezolana, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
 ** Doctora en Ciencias Biológicas. Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.
 *** Doctora en Investigación en Bioquímica. Jefe del Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos. Caracas, Venezuela.
 **** Cirujano Plástico, Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva, Hospital Universitario de Caracas, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.



Introducción

Existen numerosas patologías que afectan a la piel, destacando por su frecuencia las heridas traumáticas, las úlceras por presión y las quemaduras. Los tratamientos actuales, basados en el uso de colgajos o injertos de piel, están asociados a numerosos problemas, lo que hace necesaria la búsqueda de alternativas basadas en la elaboración de productos de piel artificial humana, generados mediante ingeniería tisular.

Hasta el momento se han diseñado distintos tipos de piel artificial, incluyendo coberturas cutáneas sintéticas y biológicas, aunque ninguno de ellos ha logrado reproducir fielmente la estructura y las funciones de la piel humana nativa.⁽¹⁾ Por un lado, las coberturas dérmicas sintéticas consisten en biomateriales no reabsorbibles y exentos de células vivas, que se pueden utilizar como cubiertas temporales o como agentes inductores de la reparación tisular guiada. Estos tejidos artificiales e inertes poseen muy poca actividad biológica, por lo que no pueden ser empleados en lesiones profundas o extensas.⁽²⁾ Por otro, las coberturas biológicas consisten en la utilización de piel humana artificial en la que existen células vivas y matrices extracelulares que tratan de reproducir la estructura de la piel humana normal, y que pueden promover la regeneración de la piel sin los inconvenientes que acarrea el uso de los autotransplantes y con mayores probabilidades de éxito.

El objetivo del presente trabajo es estandarizar una metodología que permita aislar y amplificar queratinocitos a partir de muestras de piel de donantes adultos sanos, así como también células madre mesenquimales derivadas de gelatina de Wharton, y validar la biocompatibilidad de las membranas ultrafinas de quitosano para su uso potencial como sustitutos dérmicos.

Material y método

Población y muestra

Células mesenquimales a partir de gelatina de Wharton. Los cordones umbilicales fueron recolectados en quirófano durante las cesáreas programadas realizadas por el Servicio de Obstetricia del Hospital Carlos J. Bello (Caracas, Venezuela) a partir de gestantes a término. En condiciones asépticas y en un recipiente refrigerado, se colocaron en medio *Dulbecco's Modified Eagle* (DMEM) complementados con penicilina/estrepomicina y anfotericina, como medio de transporte, para ser procesados en el Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos-USB de la Universidad Simón Bolívar de Caracas, tal y como describimos más adelante.

Células epidérmicas humanas. Obtenidas a partir de muestras de piel de pacientes sometidos a procedimientos reconstructivos y donadas para la presente investigación, previa autorización mediante consentimiento informado. Se recolectaron en recipientes estériles y se

mantuvieron en ambiente húmedo empleando gasas impregnadas con solución salina; fueron refrigeradas durante su transporte al Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos.

Aislamiento y cultivo de los tipos celulares

Aislamiento y cultivo de células madre mesenquimales a partir de Gelatina de Wharton. Seguimos el procedimiento descrito por Rojas y col.⁽³⁾ que describimos de forma breve. Después de cada nacimiento, se seccionó, bajo estrictas normas de asepsia y antisepsia, un fragmento de 5 a 10 cm del cordón umbilical. En el laboratorio se realizó un corte transversal sobre la muestra de cordón umbilical y se procedió a retirar los vasos sanguíneos y restos de sangre, haciendo 3 lavados con solución tamponada (*buffer*) de fosfato salino. El tejido fue seccionado en fragmentos de 2 mm² y posteriormente colocado en las placas de cultivo, a fin de obtener las células por migración. Los explantes se cultivaron en medio *modified Eagle* (alfa-MEM, Gibco®, Waltham, Thermo Fisher Scientific MA, EE.UU.) complementado con suero fetal bovino (SFB) al 5%, en incubadora con ambiente de humedad de 98%, temperatura de 37°C y 5% de CO₂. El medio de cultivo se cambió cada 3-4 días hasta obtener el cultivo primario mediante la migración de las células, y posteriormente se amplificó hasta lograr un total de 3-4.10⁶ células para ser empleado en los estudios de biocompatibilidad, tal y como describimos más adelante. Estas células mesenquimales se caracterizaron para evaluar su potencial de diferenciación osteogénico siguiendo el método descrito previamente por Noris-Suárez y col.⁽⁴⁾

Aislamiento y cultivo de queratinocitos. Una vez que las muestras de piel se recibieron en el Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos, se lavaron intensamente en condiciones asépticas con tampón fosfato salino pH 7.4 (PBS) y se diseccionaron retirando y separando la hipodermis de la dermis por tratamiento de digestión con dispara, siguiendo el protocolo descrito por Rojas y col.⁽³⁾ Los explantes dérmicos, fragmentos de 3-4 mm², se cultivaron empleando medio KSFM/MEM (Gibco®), suplementado con factor de crecimiento epidérmico (EGF), extracto de pituitaria e insulina. Las muestras se colocaron sobre la placa y se cultivaron con medio DMEM suplementado con 20% de SFB, hasta lograr los cultivos primarios por migración. Posteriormente, se realizaron subcultivos para amplificar el número de células cuidando no superar los 6 a 8 pasajes. Mediante este procedimiento se realizó la obtención de queratinocitos por migración. Los cultivos se emplearon para la evaluación de biocompatibilidad de las membranas de quitosano.

Preparación de geles de quitosano ultradelgados. Se empleó una mezcla de quitosano, agarosa y polietilenoglicol 400 (PEG-400), diluida en ácido acético (grado analítico) al 2%, la cual se mantuvo en agitación constante a temperatura ambiente, durante 24 horas. Para la obtención de las láminas, se vertió esta solución en pla-



cas de Petri y se dejó secar en estufa convencional a 50°C durante 24 horas. Una vez seca, se neutralizó con NaOH 5%, incubando durante 2 horas a temperatura ambiente, y posteriormente se realizaron lavados extensos con agua destilada. Las membranas ultradelgadas obtenidas se conservaron en etanol al 70%.

Evaluación de biocompatibilidad de membranas de quitosano. Las células epidérmicas y mesenquimales aisladas se sembraron en proporción de 5.000 cel/cm², tanto en la placa de cultivo (control) como sobre membranas de quitosano. Se incubaron durante 48 horas y se determinaron las células adheridas, cuantitativamente, empleando el kit comercial *CellTiter 96R®* (MTS) (Promega Corporation, WI, EE.UU.) y de forma cualitativa, empleando la tinción fluorescente del núcleo con DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) (Ultra-Cruz® Aqueous Mounting Medium with DAPI, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Heidelberg, Alemania).

Para analizar los cultivos empleando microscopía electrónica de barrido, seguimos el método descrito por Romero y col.⁽⁵⁾ Las muestras se fijaron con 2.5% v/v de glutaraldehido, incubando durante 1 hora a 4°C. Posteriormente se incubaron durante 24 horas con PBS, seguido de 2 rápidos lavados de 5 minutos cada uno también con PBS, y finalizando con 3 lavados de 5 minutos con agua destilada para eliminar el exceso de sales. Finalmente, las muestras fueron deshidratadas con lavados secuenciales con alcohol y recubiertas con grafito. El análisis se llevó a cabo empleando un microscopio electrónico de barrido Inspect F50® (Fei Company, Japón).

RESULTADOS

1. Obtención de células madre mesenquimales. En la Figura 1 presentamos las micrografías correspondientes a las células madre mesenquimales derivadas de la gelatina de Wharton; se caracterizan por presentar una morfología fibroblastoide, aspecto fusiforme y abundante citoplasma.^(6,7)

2. Diferenciación de células madre mesenquimales.

Tras la obtención de cultivos de células madre mesenquimales, se estableció un subcultivo tal y como hemos explicado en la sección de Material y Método. En la Figura 2 mostramos la micrografía obtenida de los cultivos tratados con la tinción de rojo de alizarina, reactivo que se enlaza con las moléculas de calcio depositado en la matriz extracelular que previamente ha formado el cultivo.

En este caso, el tratamiento con el medio de diferenciación osteogénico se prolongó durante 21 días para garantizar la diferenciación de las células mesenquimales hacia el linaje de osteoblastos. Tal y como se observa en la Figura 2, no solo se puede detallar una morfología celular generalizada con aspectos de osteocitos, sino que se aprecian los nódulos de mineralización.

3. Obtención de células epidérmicas (queratinocitos). Una vez establecidos los cultivos que presentaban

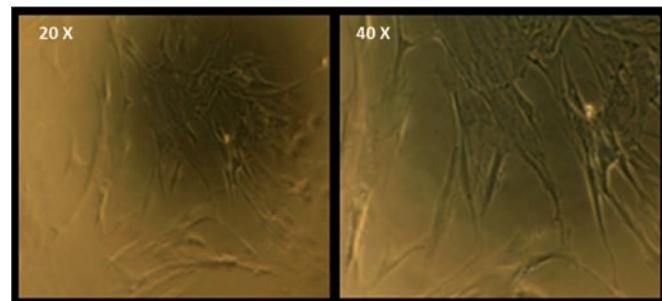


Fig. 1. Micrografías obtenidas mediante microscopía óptica convencional correspondientes a los cultivos de células madre mesenquimales obtenidas a partir de la gelatina de Wharton. Las células presentan una morfología fibroblastoide y refringente, característica de estos cultivos.

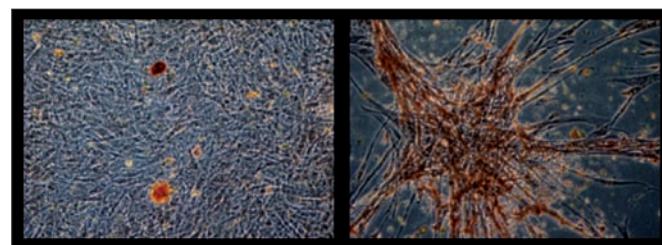


Fig. 2. Micrografía obtenida por microscopía convencional correspondiente a los depósitos de cristales de calcio formados en el proceso de biominerализación propios de los osteoblastos. Los nódulos se observan como puntos o malla de color rojo, producto de la tinción con rojo alizarina (aumento; derecha 10X, izquierda, 40X).

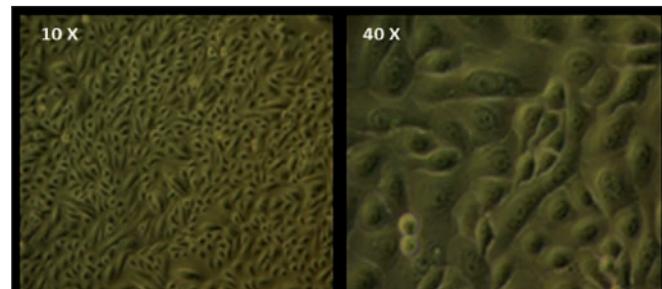


Fig. 3. Micrografías obtenidas por microscopía convencional correspondientes a los cultivos de queratinocitos. Destaca la organización tipo mosaico característica de las células epiteliales en cultivos 2D.

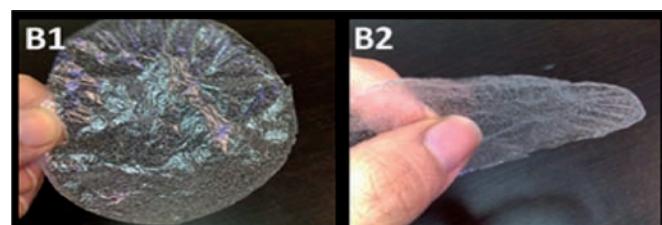


Fig. 4. Membranas deshidratadas ultradelgadas de quitosano.

una morfología epitelioide (Fig. 3) con una organización tipo mosaico en la que las células se caracterizan por presentar un gran citoplasma, núcleo oval y figuras mitóticas propias de los queratinocitos; las células crecieron formando colonias que alcanzaron confluencia entre los días 9° y 12° de cultivo, alineándose para formar una monocapa continua y única.

Para todos los ensayos, utilizamos células que no superaron el pasaje 8 (Fig. 3).

4. Fabricación de membranas de quitosano. Obtuvimos membranas ultradelgadas de quitosano a través del método descrito, las cuales mostramos en la Figura 4.

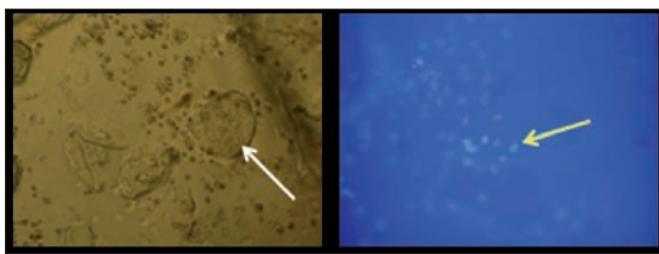


Fig. 5. Micrografías de cultivo de 48 horas de queratinocitos humanos. A la izquierda, microscopía óptica convencional: la flecha señala estructuras tipo “bolsillo” en las superficies de la membrana (aumento 10X). A la derecha, microscopía de fluorescencia con DAPI: la flecha señala colonias celulares que coinciden con esas estructuras tipo bolsillo (aumento, 10X).



Fig. 6. Micrografías de cultivo de 48 horas de células madre mesenquimales derivadas de gelatina de Wharton. A la izquierda, microscopía óptica convencional: las flechas señalan estructuras tipo “bolsillo” en las superficies de la membrana (aumento 10X). A la derecha, microscopía de fluorescencia con DAPI: la flecha señala colonias celulares que coinciden con esas estructuras tipo bolsillo (aumento, 10X).

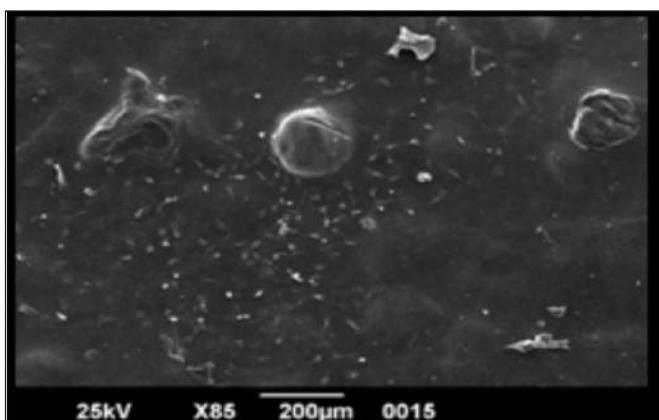


Fig. 7. Micrografía de células madre mesenquimales obtenida por microscopía electrónica de barrido según metodología descrita en el texto del artículo. Observamos la distribución de abundantes células adheridas a la superficie de las membranas, donde resalta la presencia de estructuras que sobresalen en ella (Micromarca de 200 μm).

5. Evaluación de la biocompatibilidad de los cultivos celulares sobre las membranas de quitosano. Al determinar la adhesión / proliferación de queratinocitos a las 48 horas de cultivo sobre las membranas empleando el kit CellTiter 96R®, encontramos una adhesión aceptable de las células epidérmicas, tanto en el cultivo control como sobre la matriz de quitosano (resultados no mostrados).

A fin de corroborar la adhesión de las mismas sobre la membrana, realizamos el marcaje con DAPI (Fig. 5B), lo que permitió observar los núcleos celulares y la distribución de las células que se habían adherido a la superficie de las membranas de quitosano, encontrando que las células mantenían una distribución de colonias similar a la observada en los controles. Así mismo, y mediante microscopía óptica convencional, fue posible observar es-

tructuras tipo “bolsillo” sobre las membranas, donde las células parecen distribuirse de forma más concentrada, formando colonias (Fig. 5).

En cuanto al porcentaje de células madre mesenquimales adheridas a las 24 y 48 horas de cultivo sobre las membranas de quitosano, encontramos que tanto el porcentaje de células adheridas a la placa de cultivo (control) como sobre las membranas de quitosano, no mostraban diferencias significativas (resultados no mostrados). Estos resultados se corresponden con los observados al evaluar los cultivos con DAPI (Fig. 6).

Mientras que la microscopía electrónica de barrido obtenida para estos cultivos (Fig. 7) permite observar con más precisión las estructuras que se presentan en la superficie de las membranas que hemos denominado “bolsillo” por ser estructuras que se encuentran en relieve, y donde las células parecen crecer con más facilidad.

Discusión

Tras los resultados obtenidos en la presente investigación podemos afirmar que, tal y como señalan Sesha-reddy, Troyer y Weiss⁽⁸⁾ la gelatina de Wharton constituye una fuente aceptable y eficaz de células madre mesenquimales para uso como objeto de estudio *in vitro*. Por otra parte, existen diversos estudios que promueven el uso de queratinocitos autólogos cultivados⁽⁹⁾ y que demuestran una mayor supervivencia de los pacientes tratados con ellos frente a los pacientes sometidos a auto-injertos. Sin embargo, el cultivo de células autólogas requiere al menos 20 días tras la biopsia de piel para poder disponer de los apósticos vivos; y muchas veces, ese periodo resulta ser un periodo crítico para los pacientes, como cuando se trata de grandes quemados.

El poder disponer de células madre mesenquimales derivadas de gelatina de Wharton hace que su uso para el desarrollo de piel artificial para el tratamiento de pacientes con quemaduras extensas sea un prometedor, ya que proporciona disponibilidad inmediata si estas células se mantienen disponibles en el banco de tejidos y pueden usarse como tratamiento alogénico, sin mayores complicaciones, debido a que ha sido ampliamente demostrado que estas células presentan poco o ningún rechazo inmunológico y además actúan como agentes inmunomoduladores.^(10,11)

En el presente trabajo demostramos que es suficiente una muestra de cerca de 4 cm de longitud de cordón umbilical para obtener una cantidad significativa de células mesenquimales. Así mismo, una muestra de 1 cm² de piel resulta material suficiente para lograr el aislamiento y posterior expansión de los cultivos de queratinocitos, sin que estos pierdan su características morfológicas.⁽¹²⁾ También que estas membranas resultan lo suficientemente biocompatibles como para que estos tipos celulares puedan adherirse a ellas, utilizando esta matriz como andamio o soporte del sustituto dérmico, lo que despierta un

gran interés por las potenciales aplicaciones clínicas que se pueden llevar a cabo en el desarrollo completo de sustitutos dermo-epidérmicos.^(13,14)

Da Silva y col.⁽¹⁵⁾ además señalan que las células de la gelatina de Wharton representan el componente principal de la matriz extracelular del cordón umbilical y son células madre multipotenciales capaces de expresar marcadores de células madre mesenquimales de médula ósea (BM-MSC); también realzan las bondades de las mismas en cuanto a su fácil obtención y manipulación a la hora de ser utilizadas *in vitro*.

En nuestro trabajo corroboramos que las células madre mesenquimales derivadas de la gelatina de Wharton se pueden obtener por migración y que las mismas mantienen su multipotencialidad,^(13,16) lo que las convierte en un interesante modelo para estudiar la biocompatibilidad de diferentes biomateriales. Su uso nos permitió demostrar que, efectivamente, las membranas de quitosano sintetizadas resultan biocompatibles; y que la combinación de estas células madre con este tipo de andamios podría emplearse en el tratamiento de úlceras y quemaduras,⁽¹⁷⁾ entre otras afecciones a la piel.

Así mismo, pudimos demostrar que es posible obtener ambos tipos celulares con procedimientos relativamente sencillos de aislamiento y cultivo, y que dichas células son capaces de adherirse y proliferar sobre membranas de quitosano ultradelgadas, pudiendo proponerse este sistema como idóneo para la fabricación de sustitutos dérmicos con células vivas. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Tchemtchoua y col.,⁽¹⁴⁾ quienes plantean el desarrollo de apóritos 3-D de quitosano que permitirían acortar el tiempo de curación de las heridas de la piel gracias a la estimulación de la migración, invasión y proliferación de las células cutáneas residentes.

En 2012, Alexaki y col.,⁽¹⁸⁾ realizaron un estudio comparativo entre las células mesenquimales como soporte para el crecimiento de queratinocitos *in vitro* (en cultivo en monocapa y en los modelos 3D, en cultivos de células de epidérmicas) e *in vivo*, empleando modelos de cicatrización de heridas en ratones, y como control los soportes cultivados con fibroblastos dérmicos. Concluyeron que las células mesenquimales inducen la reepitelización de forma más eficiente que los fibroblastos dérmicos, induciendo proliferación de queratinocitos a través del ciclo celular. Yanas y col.⁽¹⁹⁾ también sostienen que la migración y homeostasis epidérmica están reguladas por la influencia de las células mesenquimales, y que las mismas puedan implantarse mediante el uso de los andamios fabricados con quitosano, lo que permite proponer un sistema novedoso para el tratamiento de las heridas cutáneas de difícil resolución; resulta así un sistema que combina las propiedades mecánicas, como son las membranas ultrafinas de quitosano con sus propiedades bacteriostáticas, y en el que las células mesenquimales pueden cultivarse apropiadamente para ser empleadas como sustitutos dérmicos vivos que promuevan la regeneración de la piel, reduzcan la formación de cicatrices y los tiempos de cierre de las heridas.

Conclusiones

Con el presente trabajo evidenciamos que las láminas ultradelgadas de quitosano constituyen un excelente andamio (*scaffold*) para el desarrollo de sustituto dérmicos vivos, autólogos, si se emplean queratinocitos del propio paciente, o alogénico si se desarrollan con el uso de células madre mesenquimales derivadas de gelatina de Wharton. Demostramos la no toxicidad de este sistema de membranas ultrafinas que promueven la adhesión y el crecimiento tanto de las células epidérmicas como de las mesenquimales, siendo un sistema que podría prevenir el dejar marcas en la piel por su estructura superficial macroscópica, además de presentar una importante resistencia mecánica y al mismo tiempo flexibilidad; todo ello permite que sea una propuesta interesante, basada en ingeniería de tejidos, para futuros desarrollos con aplicaciones clínicas de importancia en el abordaje de la cicatrización de las heridas cutáneas.

Logramos la obtención de cultivos homogéneos, tanto de células mesenquimales como epidérmicas, en el Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos-USB de la Universidad Simón Bolívar de Caracas (Venezuela). Tras el cultivo de ambos tipos celulares durante la evaluación de la adhesión celular, evidenciamos una importante viabilidad de los mismos sobre las membranas de quitosano, lo que nos lleva a pensar que la Ingeniería de Tejidos está cada vez más cerca de ofrecer una amplia gama de posibilidades de aplicaciones clínicas en el área de la salud, específicamente en el desarrollo de sustitutos dermo-epidérmicos que permitan optimizar el tratamiento de los pacientes con defectos cutáneos.

Dirección del autor

Dra. Nohelia Abou Kheir
Servicio de Cirugía Plástica y Reconstructiva
Hospital Carlos J. Bello, Cruz Roja Venezolana,
Avda Este 0, Caracas 1011
Distrito Capital, Venezuela
Correo electrónico: noheliaaboukheir@gmail.com

Bibliografía

1. Dixit S., Baganizi D.R., Sahu R., Dosunmu E., Chaudhari A., et al. Immunological challenges associated with artificial skin grafts: available solutions and stem cells in future design of synthetic skin. *J. of Biological Engineering*, 2017;11(1): 49
2. Chen X., Feng X., Xie J., Ruan S., Lin Y., Lin Z., et al. Application of acellular dermal xenografts in full-thickness skin burns. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2013;6 (1), 194-198.
3. Rojas L., Bello A., González G., Noris-Suárez K. Desarrollo de membranas de quitosano biocompatibles para diversas aplicaciones en ingeniería de tejidos. En Bravo, A. y Altuve, M.



- Avances en Ingeniería Biomédica en Venezuela, Táchira, Venezuela. Fondo editorial UNET, 2012, Pp. 122-125.
- 4. **Noris Suarez K., Barrios de Arenas I., Vásquez M., Barón Y., Atias I., Bermúdez J., Lira J.** Caracterización biológica empleando células osteobláticas de vidrios del sistema SiO₂. Na₂O. CaO. K₂O. MgO. P₂O₅. Modificados con Al₂O₃ y B₂O₃. *Revista latinoamericana de metalurgia y materiales*, 2003, 23(1), 82-88.
 - 5. **Romero M. A., Sánchez F., Sabino M.A., Rodríguez J.P., González G., Noris-Suarez K.** Biocompatibility Study On Substrates Fabricated For Nerve Guides Using Scanning Electron Microscopy And Comparing Two Drying Sample Methods. *Acta Microscopica*, 2011; 20(2):131-140.
 - 6. **Jackson WM., Nesti LJ., Tuan RS.** Concise review: clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl. Med.* 2011; 1(1):44-50.
 - 7. **Alexaki VI., Simantiraki D., Panayiotopoulou, M., Rasouli, O., et al.** Adipose tissue-derived mesenchymal cells support skin reepithelialization through secretion of KGF-1 and PDGF-BB: comparison with dermal fibroblasts. *Cell Transplantation*, 2012; 21(11), 2441-2454.
 - 8. **Seshareddy K., Troyer D., Weiss, ML.** Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord. *Methods in Cell Biology*, 2008; 86, 101-119.
 - 9. **Rubio-Yanchuck M., Martínez-Méndez JR., González-Miranda A.** Análisis comparativo de morbilidad en grandes quemados tratados con sesiones de autoinjertos frente a cultivo de queratinocitos. *Cir. plást iberoatinoam.* 2015; 41(3), 295-304.
 - 10. **Troyer DL., Weiss, M.L.** Concise review: Wharton's Jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells*, 2008; 26(3), 591-599.
 - 11. **Weiss ML., Anderson C., Medicetty,S., Seshareddy KB., Weiss RJ., et al.** Immune properties of human umbilical cord Wharton's jelly-derived cells. *Stem Cells*, 2008; 26(11), 2865-2874.
 - 12. **Arvelo F., Pérez P., Cotte C.** Obtención de láminas de piel humana mediante ingeniería de tejidos. *Acta Científica Venezolana* 2004, 55: 74-82.
 - 13. **Anzalone R., Iacono M.L., Corrao S., Magno F., Loria T., et al.** New emerging potentials for human Wharton's jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity. *Stem Cells and Development*, 2010; 19(4):423-438.
 - 14. **Tchemtchoua V. T., Atanasova G., Aqil A., Filée P., Garbacki N., Vanhooteghem O., Poumay, Y.** Development of a chitosan nanofibrillar scaffold for skin repair and regeneration. *Biomacromolecules*, 2011;12(9), 3194-3204.
 - 15. **da Silva Meirelles L., Fontes AM., Covas DT., Caplan A. I.** Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine & growth factor reviews*, 2009;20(5-6), 419-427.
 - 16. **Dominici M., Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marin F., Krause D., et al.** Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315-317.
 - 17. **Shohara R., Yamamoto A., Takikawa S., Iwase A., Hibi H., Kikkawa F., Ueda M.** Mesenchymal stromal cells of human umbilical cord Wharton's jelly accelerate wound healing by paracrine mechanisms. *Cytotherapy*, 2012;14(10), 1171-1181.
 - 18. **Alexaki V.I., Simantiraki D., Panayiotopoulou M., Rasouli O., Venihaki M., et al.** Adipose tissue-derived mesenchymal cells support skin reepithelialization through secretion of KGF-1 and PDGF-BB: comparison with dermal fibroblasts. *Cell Transplantation*, 2012;21(11), 2441-2454.
 - 19. **Yannas IV., Burke JF., Gordon, P. L., Huang, C., Rubenstein, R. H.** Design of an artificial skin. II. Control of chemical composition. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 1980;14(2), 107-132.

