

GACETA MÉDICA DE MÉXICO

ACTUALIDADES TERAPÉUTICAS

Ingeniería tisular aplicada a la tráquea como injerto

Elisa Barrera-Ramírez^{1}, Edna Rico-Escobar¹ y Rubén E. Garrido-Cardona^{1,2}*

¹Departamento de Ciencias de la Salud; ²Departamento de Neumología y Cirugía de Tórax. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Centro Médico de Especialidades de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, Chihuahua, Chih., México

Resumen

La ingeniería tisular ofrece, por medio de nuevas tecnologías, la generación ex vivo de órganos y tejidos funcionales para el trasplante y sustitución de funciones biológicas con ausencia de respuesta inmunológica. El tratamiento de padecimientos estructurales traqueales extensos consiste en la sustitución del segmento afectado; sin embargo, el trasplante alogénico y el uso de materiales sintéticos no han tenido buenos resultados. Se han desarrollado novedosas metodologías de ingeniería tisular para generar un injerto traqueal para su implantación como reemplazo. El propósito del texto es revisar los métodos y componentes utilizados por la ingeniería de tejidos para la generación de dichos injertos traqueales.

PALABRAS CLAVE: *Ingeniería de tejidos. Tráquea. Injerto. Trasplante.*

Abstract

Tissue engineering offers, through new technologies, an ex vivo generation of organs and functional tissues as grafts for transplants, for the improvement and substitution of biological functions, with an absence of immunological response. The treatment of extended tracheal lesions is a substitution of the affected segment; nevertheless, the allogeneic transplant has failed and the use of synthetic materials has not had good results. New tissue engineering technology is being developed to offer a tracheal graft for a posterior implantation. The purpose of this article is to review all the methods and components used by the engineering of tissue for tracheal grafts. (Gac Med Mex. 2016;152:120-3)

Corresponding author: Elisa Barrera Ramírez, ebarrera@uacj.mx

KEY WORDS: *Tissue engineering. Trachea. Graft. Transplant.*

Introducción

La obstrucción de la vía aérea por estenosis traqueal se debe a lesiones causadas por el uso prolongado de ventilación mecánica con sondas orotraqueales, nasotraqueales o cánulas de traqueostomía, en el 5-20% de los casos^{1,2}. Otras causas pueden ser tumores malignos, benignos, neoformaciones (granulomas, papilomas, bridas), enfermedades congénitas (traqueomalacia) e infecciosas (tuberculosis). Se manifiesta

clínicamente por dificultad respiratoria, retención de secreciones y neumonías; dichas lesiones pueden conducir a la muerte por asfixia, por lo que su diagnóstico y tratamiento es urgente. Si la lesión abarca menos de cinco anillos traqueales, el tratamiento consiste en resección y anastomosis terminoterminal, pero si la extensión es mayor, el tejido debe ser sustituido^{3,4}. El trasplante alogénico ha sido un fracaso por la falta de disponibilidad de órganos en condiciones y tiempo adecuado, así como por la histocompatibilidad y el tratamiento inmunosupresor, que llevan a la pérdida

Correspondencia:

*Elisa Barrera-Ramírez

E-mail: ebarrera@uacj.mx

Fecha de recepción: 05-08-2014

Fecha de aceptación: 22-07-2015

del injerto o a la recidiva de la estenosis. Se ha intentado el reemplazo sintético con múltiples materiales, pero inducen una infección extrusión y estenosis. También se ha intentado utilizar tejidos autólogos, pero la complicación más común es la recidiva de la estenosis⁵⁻⁷, por lo que se han implementado tecnologías en ingeniería de tejidos para generar reemplazos de distintos órganos y tejidos, que consisten en obtener matrices biológicas o artificiales que funcionen como andamiaje para el crecimiento de células madre del receptor y obtener órganos semejantes al original en su estructura, mecánica y funcionalidad^{8,9}.

La tráquea es un conducto cartilaginoso que sirve para la ventilación y arrastre de las secreciones. De calibre amplio y paredes finas, conecta la laringe con los bronquios principales, es aplanada en la parte posterior y cilíndrica en la anterior, y tiene una longitud de 11 cm. Los anillos de cartílago son incompletos en la parte posterior, en donde se unen con los tejidos fibroso y muscular, característica que impide su colapso durante la inspiración. Su luz es revestida por un epitelio columnar pseudoestratificado ciliado que permite la depuración de moco y regula los fluidos y el transporte de iones¹⁰⁻¹².

El injerto ideal de tráquea debe ser rígido lateralmente y flexible longitudinalmente, hermético, que no colapse durante la inspiración, biocompatible, no inmunogénico, no tóxico, resistente a la colonización bacteriana, fácil de implantar para garantizar su permanencia, y debe contar con el epitelio ciliado¹³. Para ello se debe tener una matriz adecuada, que debe funcionar como soporte o andamio para sembrar las células del receptor. El andamio ideal debe permitir la adhesión celular, el crecimiento y la diferenciación, pero también tiene que crear una red tridimensional estable con un microambiente con suficiente porosidad para el crecimiento celular. El andamio puede ser biológico de un donador de la misma especie (matrices alogénicas), de un donador de diferente especie (matrices xenogénicas), sintéticas o combinadas.

En la tráquea se han utilizado matrices biológicas alogénicas descelularizadas y sembradas con células autólogas, que conservan algunas de las propiedades esenciales del tejido original, para obtener injertos con éxito^{14,15}. La matriz se obtiene eliminando las células y residuos de ADN del segmento traqueal, para no desencadenar una respuesta inflamatoria y de rechazo; aun así, se han reportado casos en los que se monta dicha respuesta frente a estos tejidos^{16,17}. La falta de viabilidad y funcionalidad en la construcción del tejido se puede deber a la destrucción de los componentes

estructurales como las fibras de colágena y elásticas, los proteoglicanos y glucosaminoglicanos de la matriz durante el proceso de descelularización, perdiendo resistencia y rigidez, ya que este proceso ha sido difícil de estandarizar¹⁸⁻²⁰. Los proteoglicanos son importantes en el tejido traqueal, ya que intervienen en la adhesión, migración y proliferación celular, y en la regulación de la estructura de la matriz extracelular, afectando a su integridad, rendimiento y durabilidad; por ello tienen un papel relevante en la generación del tejido *in vitro*^{21,22}. El tiempo de preservación de la matriz es importante, ya que se inicia la actividad proteolítica y su degradación a 4 °C.

Los injertos traqueales que usan matrices xenogénicas de animales no han provocado rechazo, ya que durante el proceso de descelularización los antígenos reconocidos por el sistema inmune son eliminados y repoblados por células del receptor. Se han realizado parches de segmentos de yeyuno porcino descelularizados y sembrados con células musculares y fibroblastos humanos que reemplazan el tejido conectivo con ausencia de rechazo^{23,24}.

También se han utilizado matrices sintéticas en la tráquea. En la década de 1990 se usaron materiales sintéticos poliméricos o de hidrogel para crear cartílago, con malos resultados preclínicos, ya que provocaron una potente respuesta inflamatoria²⁵. Se implantó en conejos una estructura compuesta por un *stent* tubular de silicio envuelto con tejido epitelial obtenido de la mucosa interna de la oreja. Se utilizó una malla de polipropileno para sustituir el cartílago traqueal y la fascia torácica lateral como suministro vascular. Después de dos semanas *in vivo*, la rigidez, elasticidad, diámetro y espesor de la pared fueron similares a los de la tráquea nativa. Sin embargo, las complicaciones a largo plazo son el desarrollo de estenosis, el crecimiento de glándulas y la acumulación de secreciones mucosas debido a la falta de función mucociliar²⁶. Se propuso un enfoque alternativo utilizando polímeros sensibles a la temperatura como sustrato para las células epiteliales, que fueron utilizados en el lumen del injerto compuesto de polipropileno monofilamento reforzado con Dacron²⁷. También se han sembrado células madre de ovejas en un andamio de ácido poliglicólico tratado con factores de crecimiento para desarrollar una estructura similar a la nativa. Se han sembrado células madre del receptor en matrices de nanocomuestos cubiertos con un polímero sintético^{28,29}.

En comparación con los andamios sintéticos, las matrices biodegradables naturales tienen fuertes ventajas, ya que mantienen la composición natural de la

matriz extracelular, no liberan productos tóxicos ni producen inflamación, y desempeñan un papel activo en la regulación del comportamiento de la célula que afecta a su proliferación, migración y diferenciación^{30,31}.

En la actualidad, el esfuerzo consiste en la creación de materiales artificiales o híbridos que imiten la matriz extracelular natural utilizando una matriz biológica fortalecida por materiales sintéticos³². La combinación de materiales sintéticos y biológicos ya se ha experimentado en perros con éxito. En un paciente pediátrico se utilizó un injerto híbrido para tratar una estenosis traqueal congénita asociando un biopolímero de polipoli-ε-caprolactona sembrada con células madre autólogas y aplicando factor transformador del crecimiento β sobre los cartílagos para inducir la proliferación de condrocitos. Se realizó un seguimiento clínico durante dos años sin complicaciones³³. Un factor importante en la generación del injerto es el biorreactor como dispositivo para contener la matriz, las células y las moléculas necesarias para permitir su interacción en condiciones ideales en la regeneración del tejido. El ambiente del cultivo debe ser dinámico, controlable y reproducible, y es esencial para la distribución uniforme de las células en el andamio, así como para el suministro de nutrientes y la eliminación de desechos. También provee de fuerzas hidrodinámicas de tensión y cizallamiento para promover el desarrollo del tejido, como la angiogénesis, la función ciliar, la actividad metabólica y la diferenciación celular.

Se ha logrado construir injertos traqueales en 24 h, donde la superficie de la matriz ya está cubierta por células. El éxito en la construcción depende del tipo de célula utilizada, las condiciones del cultivo y las propiedades del andamio. La gama de fuentes de células para la ingeniería de tejidos continúa en aumento. Las células madre más utilizadas en estos procedimientos son las derivadas del tejido graso, la sangre periférica y la médula ósea; estas últimas poseen una gran capacidad de diferenciación. Los condrocitos se han obtenido del cartílago auricular, el costal, el tabique nasal, el hueso o las articulaciones para desarrollar tejido cartilaginoso. Las células epiteliales se pueden tomar de la mucosa nasal o traqueal; éstas permiten la regeneración del epitelio que se requiere como barrera física y reguladora de funciones metabólicas de la vía respiratoria. Durante los primeros intentos para obtener una bioprótesis traqueal en cerdos se utilizaron únicamente condrocitos, que dieron una resistencia biomecánica *in vivo* del injerto, pero se infectaron, por carecer de células epiteliales con la función de barrera frente a microorganismos. Con

la adición de células epiteliales en la parte interna del injerto se generó tejido sano con supervivencia a largo plazo^{34,35}. Se ha desarrollado un nuevo sistema de cultivo *in vitro*, llamado cocultivo, sembrando en lados opuestos de la membrana de colágeno condrocitos nasales y células epiteliales de las vías respiratorias³⁶.

Recientemente se han utilizado experimentalmente células madre obtenidas del líquido amniótico y el cordón umbilical para el tratamiento de padecimientos estenóticos congénitos³⁷. Walles, et al. descelularizaron una matriz sin alterar la estructura y la membrana basal, y la sembraron con células autólogas progenitoras endoteliales para permitir una revascularización adecuada y con células de la médula ósea, condrocitos costales y células epiteliales respiratorias. Los autores demostraron que es posible obtener todos elementos celulares traqueales funcionando, como la proliferación de condrocitos, la matriz cartilaginosa, el tejido muscular y la presencia de células epiteliales ciliadas³⁸.

Discusión

La ingeniería de tejidos es un rápido y creciente campo interdisciplinario con un potencial considerable para contribuir de manera significativa a la medicina regenerativa. Es emocionante el desarrollo de nuevas estrategias y tecnologías con el objetivo de crear tejidos y órganos completos *ex vivo*. El futuro de la ingeniería de tejidos se encuentra en la búsqueda de nuevas alternativas en la generación de matrices sin dejar de ser comercialmente viable, considerando que se requiere una compleja interacción de factores, como la variedad de señales espaciales y temporales. Por ello, se debe conocer mejor la biología del tejido y el órgano a diseñar, especialmente la tráquea.

Bibliografía

- Acosta L, Cruz PV, Zagalo C, Santiago N. [Iatrogenic tracheal stenosis following endotracheal intubation: a study of 20 clinical cases]. Acta Otorrinolaringol Esp. 2004;54(3):202-10.
- Briquet A, Verkindre C, Dupont J, et al. Multidisciplinary approach to management of postintubation tracheal stenoses. J Eur Respir. 1999;13(4):888-93.
- Antón-Pacheco Sánchez JL, Cuadros García J, Villafruela Sanz MA, Cano Novillo I, García Vázquez A, Berchi García FJ. [Tracheal stenosis: individualized treatment]. Cir Pediatr. 2002;15(1):8-14.
- Grillo HC. Tracheal replacement: a critical review. Ann Thorac Surg. 2002;73(6):1995-2004.
- Jacobs JR. Investigations into tracheal prosthetic reconstruction. Laryngoscope. 1988;98(11):1239-45.
- Cohen FC, Filler RM, Konuma K, Bahoric A, Kent G, Smith C. The successful reconstruction of thoracic tracheal defects with free periosteal grafts. J Pediatr Surg. 1985;20(6):852.
- Birchall M, Macchiarini P. Airway transplantation: a debate worth having? Transplantation. 2008;85(8):1075-80.
- Schenke-Layland K. From tissue engineering to regenerative medicine—the potential and the pitfalls. Adv Drug Deliv Rev. 2011;63(4-5):193-4.

9. Atala A, Bauer SB, Soker S, Yoo JJ, Retik AB. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet.* 2006; 367(9518):1241-6.
10. Svenja H, Schenke-Layland K. Tracheal tissue engineering: building on a strong foundation. *Expert Rev Med Devices.* 2013;10(1):33-5.
11. Yang L, Korom S, Welti M, et al. Tissue engineered cartilage generated from human trachea using DegraPol scaffold. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003;24(2):201-7.
12. Lopez-Vidriero MT. Mucus as a natural barrier. *Respiration.* 1989;55 Suppl 1:28-32.
13. Neville WE, Bolanowski PJ, Kotia GG. Clinical experience with the silicone tracheal prosthesis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;99(4):604-12.
14. Conconi MT, De Coppi P, Di Liddo R, et al. Tracheal matrices, obtained by a detergent-enzymatic method, support in vitro the adhesion of chondrocytes and tracheal epithelial cells. *Transpl Int.* 2005;18(6):727-34.
15. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet.* 2008;372(9655):2023-30.
16. Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues. *Lancet.* 2012;379(9819):943-52.
17. Bayrak A, Tyralla M, Ladhoff J, et al. Human immune responses to porcine xenogeneic matrices and their extracellular matrix constituents in vitro. *Biomaterials.* 2010;31(14):3793-803.
18. Schenke-Layland K, Vasilevski O, Opitz F, et al. Impact of decellularization of xenogeneic tissue on extracellular matrix integrity for tissue engineering of heart valves. *J Struct Biol.* 2003;143(3):201-8.
19. Baiguera S, Birchall MA, Macchiarini P. Tissue-engineered tracheal transplantation. *Transplantation.* 2010;89(5):485-91.
20. Petersen TH, Calle EA, Colehour MB, Niklason LE. Matrix composition and mechanics of decellularized lung scaffolds. *Cells Tissues Organs.* 2012;195(3):222-31.
21. Hinderer S, Schesny M, Bayrak A, et al. Engineering of fibrillardecorin matrices for a tissue-engineered trachea. *Biomaterials.* 2012;33(21): 5259-66.
22. Schaefer L, Schaefer RM. Proteoglycans:from structural compounds to signaling molecules. *Cell Tissue Res.* 2010;339(1):237-46.
23. Jungebluth P, Go T, Asnaghi A, et al. Structural and morphological evaluation of a novel enzymatic detergent tissue engineered tracheal tubular matrix. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;138(3):586.
24. Macchiarini P, Walles T, Biancosino C, Mertsching H. First human transplantation of a bioengineered airway tissue. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128(4):638-41.
25. Britt JC, Park SS. Autogenous tissue-engineered cartilage: evaluation as an implant material. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;124(6):671-7.
26. Okumuş A, Cizmeci O, Kabakas F, Kuvat SV, Bilir A, Aydin A. Circumferential trachea reconstruction with a prefabricated axial bio-synthetic flap: Experimental study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2005;69(3):335-44.
27. Kanzaki M, Yamato M, Hatakeyama H, et al. Tissue engineered epithelial cell sheets for the creation of a bioartificial trachea. *Tissue Eng.* 2006;12(5):1275-83.
28. Kojima K, Ignatz RA, Kushibiki T, Tinsley KW, Tabata Y, Vacanti CA. Tissue-engineered trachea from sheep marrow stromal cells with transforming growth factor beta2 released from biodegradable microspheres in a nude rat recipient. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128(1):147-53.
29. Jungebluth P, Go T, Asnaghi A, et al. Structural and morphological evaluation of a novel detergent- enzymatic tissue-engineered tracheal tubular matrix. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009;138(3):586-93; discussion 592-3.
30. Kim BS, Baez CE, Atala A. Biomaterials for tissue engineering. *World J Urol.* 2000;18(1):2-9.
31. Schmidt CE, Baier JM. Acellular vascular tissues: Natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials.* 2000;21(22): 2215-31.
32. Sato T, Tao H, Araki M, Ueda H, Omori K, Nakamura T. Replacement of the left main bronchus with a tissue-engineered prosthesis in a canine model. *Ann ThoracSurg.* 2008;86(2):422-8.
33. Elliott MJ, De Coppi P, Spaggiari S, et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *Lancet.* 2012;380(9846):994-1000.
34. Vacanti CA, Paige KT, Kim WS, Sakata J, Upton J, Vacanti JP. Experimental tracheal replacement using tissue-engineered cartilage. *J Pediatr Surg.* 1994;29(2):201-4; discussion 204-5.
35. Go T, Jungebluth P, Baiguero S, et al. Both epithelial cells and mesenchymal stem cell derived chondrocytes contribute to the survival of tissue-engineered airway transplants in pigs. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;139(2):437-43.
36. Pfenninger C, Leinhase I, Endres M, et al. Tracheal remodeling: comparison of different composite cultures consisting of human respiratory respiratory epithelial cells and human chondrocytes. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2007;3(1):28-36.
37. Kunisaki SM, Freedman DA, Fauza DO. Fetal tracheal reconstruction with cartilaginous grafts engineered from mesenchymal amniocytes. *J Pediatr Surg.* 2006;41(4):675-82; discussion 675-82.
38. Walles T, Giere B, Hofmann M, et al. Experimental generation of a tissue-engineered functional and vascularized trachea. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;128(6):900-6.