Copyright Cuadernos de Bioética

PRODUCCIÓN DE ÓRGANOS BIOARTIFICIALES

ARTIFICIAL ORGANS PRODUCTION

JUSTO AZNAR LUCEA[1]
JULIO TUDELA CUENCA[2]
JOSÉ LUIS SÁNCHEZ GARCÍA[3]
[1] *Instituto de Ciencias de la Vida de la Universidad Católica de Valencia*
[2] *Observatorio de Bioética de la Universidad Católica de Valencia*
[3] *Vicerrectorado de Extensión Cultural de la Universidad Católica de Valencia*
C. Guillem de Castro 94, 46003, Valencia, España.
Tel: 963637412. Fax: 963153655. e-mail: justo.aznar@ucv.es

Palabras clave:
Órganos bioartificiales, órganos biogenerados, uso experiencial y clínico, trasplante, valoración ética.

Recibido: 04/11/2014
Aceptado: 10/02/2015

Keywords:
Bioartificial organs, biogenerated organs, experiential and clinical use, transplant, ethical evaluation.

1. Introducción

Un área de la clínica humana de gran interés biomédico es la del trasplante de órganos pues cada vez son más los pacientes que sufren un proceso degenerativo de un órgano concreto que obliga a sustituirlo.

El principal problema que se plantea en este campo terapéutico es la escasez de órganos para ser trasplantados, pues a pesar de políticas muy activas para fomentar la donación de órganos, son muchos los pacientes que tienen que esperar largos periodos de tiempo, con el agravamiento que ello puede suponer para su enfermedad, incluso hay bastantes que no consiguen el órgano deseado y fallecen sin haber sido trasplantados. Como botón de muestra de ello puede ser de interés recordar que el pasado 14 de abril de 2014 había en Estados Unidos 122.000 pacientes esperando un órgano para serles trasplantado, pero menos de 30.000 lo consiguieron ese año[1]. Por lo que, hay que buscar soluciones alternativas para este grave problema. Sin duda, una de las más esperanzadoras es la producción bioartificial de tejidos y órganos.

Como se comenta en The Lancet[2] la posibilidad de obtener órganos bioproducidos es una novedosa estrategia que puede ser utilizada con ventaja en el campo de la medicina regenerativa y reparadora. Estos órganos se pueden producir combinando células troncales de distintos tipos con matrices extracelulares biocompatibles y biodegradables, consiguiéndose así estructuras biológicas que pueden ser creadas ex vivo y que pueden implantarse, y mantenerse en adecuadas condiciones de funcionamiento, tras ser trasplantadas a animales vivos.

Por otro lado, la posibilidad de producir estos órganos utilizando células troncales del propio paciente que va a recibir el trasplante evitaría los problemas de rechazo inmunológico que frecuentemente se da en el trasplante de órganos.

1 The Scientist. 2014 May 1.
2 Ott HC, Mathisen DJ. Bioartificial tissues and organs: are we ready to translate? The Lancet. 2011; 378: p. 1977-1978.

Aunque el avance en el campo médico que estamos comentando es indudable, y su uso clínico ya se está convirtiendo en realidad, es necesaria aún mucha más experimentación preclínica en modelos animales, para evaluar la seguridad y eficacia de estas técnicas y así poder pensar en su utilización generalizada en la clínica humana. Especialmente hay que encontrar las matrices extracelulares idóneas, la fuente de células troncales más adecuada, las mejores condiciones de cultivo, así como el manejo perioperativo de los pacientes, todo lo cual debe ser aclarado previamente a la utilización clínica generalizada de órganos bioproducidos.

De todas formas, no cabe duda de que nos encontramos en los albores de un prometedor campo terapéutico, pues ya se van consiguiendo resultados positivos, y son bastantes los órganos bioproducidos, algunos de los cuales ya han podido ser utilizados en la clínica humana.

En el campo terapéutico que estamos comentado se pueden distinguir tres grandes grupos de experiencias: la producción de órganos, la experimentación con animales y el uso clínico en humanos; a ello nos referiremos en este trabajo, añadiendo un cuarto capítulo para evaluar médica y éticamente el uso de órganos bioproducidos.

2. Producción de órganos (Tabla 1)

2.1. Corazón

Las enfermedades cardiacas son una de las principales causas de mortalidad en el mundo[3]. A pesar de los progresos realizados en el tratamiento de las mismas el trasplante de corazón puede ser la última posibilidad curativa para muchos de estos pacientes. Sin embargo, este tipo de trasplante, como otros, tiene una objetiva dificultad y es la limitada cantidad de corazones disponibles para ser trasplantados. Por ello, promover nuevas opciones terapéuticas para dichos enfermos es prioritario.

En este sentido, son dos las posibilidades que al parecer ofrecen mejores perspectivas clínicas: la terapia celular y la producción de bioórganos para ser trasplantados.

En relación con la terapia celular, son ya numerosos los ensayos clínicos dirigidos a evaluarla en pacientes cardiacos[4], aunque la gran mayoría de ellos han estado dirigidos a reparar lesiones parciales del corazón dañado, pero no todo él.

Los intentos de producir bioartificialmente tejido cardiaco han sido numerosos[5], pero solamente se han logrado producir pequeñas estructuras, que trasplantadas a animales con disfunción cardiaca consiguen mejorarla[6]. Sin embargo, parece ineludible conseguir la producción de órganos completos.

Las primeras experiencias para la producción de un corazón bioartificial fueron las realizadas por el equipo de Doris Taylor, quienes en 2008 lo consiguieron[7]. Esencialmente la técnica que utilizaron consistió en la descelularización de corazones de cadáver de rata por perfusión con distintos tipos de detergentes. En esas primeras experiencias, utilizaron 40 corazones de cadáveres de rata y probaron tres tipos de detergentes, eligiendo finalmente el dodecil sulfato sódico (SDS). Tras la perfusión del corazón animal con el detergente durante 12 horas consiguieron una matriz descelularizada del mismo, que mantenía la estructura geométrica del corazón de rata, y sobre todo su estructura vascular y válvulas celulares funcionantes.

Posteriormente, la matriz descelularizada fue recelularizada con células troncales cardiacas y endoteliales, introduciéndola después en un biorreactor que garantizaba la perfusión coronaria en un medio de cultivo oxigenado, consiguiéndose así una estructura cardiaca completa, la cual a los 4 días empezó a contraerse y a los 8 ya podía funcionar como bomba cardiaca[8].

3 Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya KAV, al e. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet. 2012; 380: p. 2095-128.

4 Pfister O, Della Verde G, Liao R, Kuster GM. Regenerative therapy for cardiovascular disease. Transl Res. 2014; 163: p. 307-20.

5 Eschenhagen T, Zimmermann WH. Engineering Myocardial Tissue. Circulation Research. 2005; 97: p. 1220-1231.

6 Zimmermann WH, Melnychenko I, Wasmeier G, Didié M, Naito H, Nixdorff U, et al. Engineered heart tissue grafts improve systolic and diastolic function in infarcted rat hearts. Nat Med. 2006; 12: p. 452-8.

7 Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, Black LD, Kren SM, Netoff TI, et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. Nat Med. 2008; 14: p. 213-21.

8 Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, Black LD, Kren SM, Netoff TI, et al, op.cit. 7.

Tabla 1. Producción de órganos bioartificiales.

ÓRGANO	TRABAJOS	AÑO	FINALIDAD DEL TRABAJO	FUENTE REGENERATIVA	RESULTADOS
Corazón	Ott HC et al. (1)	2008	Obtención de corazones completos de rata	Matriz de corazón de rata descelularizada / recelularizada con células troncales cardiacas y endoteliales	Funcionamiento como bomba cardiaca a los 8 días
	Lu T et al. (2)	2013	Obtención de un corazón híbrido animal-humano	Matriz de corazón animal descelularizada /recelularizada con células troncales pluripotentes inducidas (iPS) humanas	Funcionamiento como bomba cardiaca a los 20 días
Intestino	Spence JR et al. (3)	2010	Producción de estructuras tridimensionales de tejido intestinal humano	Células troncales cultivadas con diferentes factores/células iPS derivadas de las células de piel de un sujeto adulto	Producción de intestino artificial con funcionalidad similar al intestino normal
Cerebro	Lancaster MA et al. (4)	2013	Producción de estructuras tridimensionales de tejido nervioso humano	Células iPS de un paciente que padecía microcefalia	Producción de "organoides cerebrales"
	Daskalakis NP et al. (5)	2014	Producción de una estructura cerebral tridimensional	Neuronas corticales de rata sembradas en una matriz de fibras de seda	Producción de tejido cerebral parecido a una estructura cerebral funcionante
Pulmón	Petersen TH et al.; Ott H et al. (6) (7)	2010	Producción de una estructura tridimensional pulmonar	Matriz descelularizada de pulmones de rata recelularizada con células neonatales de tipo epitelial y con células endoteliales	Tejido pulmonar capaz de intercambio gaseoso.
Hueso	Grayson WL et al. (8)	2010	Obtención de tejido óseo humano	Estructura ósea trabecular descelularizada / recelularizada células troncales mesenquimales humanas	Obtención de capas laminares de tejido óseo
Hueso	Tsigkou O et al. (9)	2010	Obtención de tejido óseo de ratón	Matriz ósea descelularizada de raton / recelularizada con células troncales mesenquimales humanas de médula ósea y células endoteliales de sangre de cordón umbilical	Asociación de las células mesenquimales trasplantadas a la matriz ósea y mineralización del tejido óseo producido.
	de Peppo GM et al. (10)	2013	Obtención de estructuras óseas	Matriz ósea descelularizada/recelularizada con células iPS del propio paciente	Producción de estructuras óseas específicas del paciente del que se han obtenido las células iPS
Oreja	Cervantes TM et al. (11)	2013	Producción de orejas bioartificiales	Molde de titanio rellenado con células cartilaginosas de oreja	La estructura creada adquiere la morfología propia de la oreja adulta
Ovario	Krotz, S P et al. (12)	2010	Obtención de tejido ovárico humano	Estructura tridimensional de gel de agarosa / celularizada con células de la teca obtenidas de donantes / añadiendo ovocitos inmaduros recubiertos de células de la granulosa	El tejido ovárico generado es capaz de producir ovocitos funcionantes
Córnea	Luo H (13)	2013	Obtención de córneas porcinas	Matriz descelularizada de cerdos/recelularizada con células amnióticas y epiteliales	Se obtiene material corneal apto para reparar lesiones severas de la córnea
	Eiraku M et al. (14)	2011	Producción de un ojo de ratón embrionario	Células troncales embrionarias del mismo animal a las que se añade Matrigel	Formación de copas retinianas

El órgano producido era trasplantable a animales en la etapa final de una enfermedad cardiaca experimental.

Según los autores, aunque este estudio estaba limitado a ratas, podría en un futuro ser utilizado en humanos, pues también se evaluó la técnica con éxito en mamíferos superiores, como en cerdos, que muestran una complejidad cardiaca similar a la humana.

Además esta misma técnica fue utilizada, por el propio equipo de Doris Taylor, para descelularizar otros órganos, entre ellos: pulmón, hígado, riñón y tejido muscular, lo que posteriormente también fue llevado a cabo por otros equipos de investigación[9,10,11,12,13].

Se ha dado un paso más en la producción de corazones bioartificiales, cuando en marzo de 2013 se publicó un artículo en Nature Communications[14], en el que se describe la producción de un corazón híbrido animal-humano. Esencialmente la experiencia consistió en reemplazar en un corazón animal descelularizado sus células con células cardiacas obtenidas a partir de células troncales pluripotentes inducidas (iPS) humanas, derivadas de células progenitoras cardiovasculares. Las células humanas trasplantadas a la matriz de corazón animal, migran, proliferan y se diferencian in situ a miocardiocitos, células musculares y endoteliales, hasta reconstruir el corazón descelularizado de la rata. Tras 20 días de perfusión el corazón bioproducido se contrae espontáneamente, muestra fuerza mecánica y responde a fármacos específicos. Además también se comprueba que la matriz extracelular contribuye a promover la proliferación de cardiomiocitos.

En opinión de los autores, su nueva estrategia puede ser útil para producir corazones bioartificiales personalizados (no hay que olvidar que la matriz de corazón de rata se recelularizó con células obtenidas de células iPS del propio paciente), lo que puede servir para promover ensayos preclínicos, dentro del amplio campo de la medicina regenerativa cardiaca.

2.2. Intestino

Aunque con anterioridad se había conseguido diferenciar células troncales embrionarias y células iPS en células intestinales no se había podido producir una verdadera estructura tridimensional. Sin embargo, en 2010, un equipo de Cincinnati, dirigido por James Wells, publica en Nature la producción, por primera vez, de una estructura tridimensional de tejido intestinal, es decir similar al intestino natural[15].

Para conseguirlo se cultivan células troncales con activina A, lo que las hizo diferenciarse a células similares a las del endodermo. Después se añaden otros dos factores, WNT3A y FGF4, que trasforman el endodermo genérico producido en endodermo posterior, que conduce al desarrollo de tejido intestinal. Después se añade un conjunto de factores, que los autores denominan "sistema de cultivo prointestinal", que favorece la producción de un intestino artificial con funcionalidad similar al intestino normal, pues a los 28 días se podían identificar en él leucocitos, células caliciformes, endometriales y de Paneth.

El intestino producido tiene la particularidad de que, en una de las experiencias, se obtiene a partir de células iPS derivadas de las células de piel de un sujeto adulto, lo que permite que el tejido producido pudiera ser trasplantado al mismo individuo sin problemas de rechazo, mejorando sustancialmente la posibilidad de trasladar estas experiencias a la clínica humana.

Además de su posible utilidad dentro del campo de la medicina regenerativa, estas experiencias pueden dar paso a la obtención de células iPS de pacientes con anormalidades congénitas del intestino, lo que permitirá

9 Song JJ, Guyette JP, Gilpin SE, Gonzalez G, Vacanti JP, C OH. Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney. Nature Medicine. 2013; 19: p. 646–651.

10 Petersen TH, Calle EA, Zhao L, Lee EJ, Gui L, Raredon MB, et al. Tissue-engineered lungs for in vivo implantation. Science. 2010; 329: p. 538-541.

11 Ott HC, Clippinger B, Conrad C, Schuetz C, Pomerantseva I, Ikonomou L, et al. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. Nature Medicine. 2010; 16: p. 927–933.

12 Nakayama KH, Batchelder CA, Lee CI, F TA. Decellularized rhesus monkey kidney as a three-dimensional scaffold for renal tissue engineering. Tissue Eng Part A. 2010; 16: p. 2207-16.

13 Uygun BE, Soto-Gutierrez A, Yagi H, Izamis ML, Guzzardi MA, Shulman C, et al. Organ reengineering through development of a transplantable recellularized liver graft using decellularized liver matrix. Nat Med. 2010; 16: p. 814-20.

14 Lu T, Lin B, Kim J, Sullivan M, Tobita K, Salama Gea. Repopulation of decellularized mouse heart with human induced pluripotent stem cell-derived cardiovascular progenitor cells. Nature Communications DOI: 10.1038/ncomms330. 2013.

15 Spence J, Mayhew C, Rankin S, Kuhar M, Vallance J, Tolle K, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. Nature. 2010; 470: p. 105-9.

profundizar en la patogenia de dichos trastornos, y en su caso poder iniciar ensayos clínicos para tratarlos.

2.3. Cerebro

Un grupo de investigadores de las Universidades de Viena, Edimburgo, Cambridge y Londres, dirigido por el austriaco Juergen A Knoblich[16], ha logrado producir estructuras tridimensionales de hasta cuatro milímetros de diámetro de tejido nervioso, que ellos denominan "organismos cerebrales", que se asemejan a la estructura cerebral humana en sus primeras etapas de desarrollo y que pueden producir tejidos de varias regiones cerebrales, como puede ser el córtex cerebral, y que a su vez contiene poblaciones de células progenitoras que pueden generar distintos subtipos de neuronas. Estas estructuras cerebrales, semejantes al cerebro humano, hasta ahora no se habían conseguido producir.

Este estudio también tiene la particularidad de que describe la producción de células iPS, obtenidas a partir de células somáticas de un paciente que padecía microcefalia, una enfermedad que es difícil de reproducir en ratones. A partir de ellas se pudieron diferenciar organoides cerebrales de ese mismo paciente, lo que posiblemente podría facilitar el estudio de dicha enfermedad, e incluso de otras, como pueden ser esquizofrenia o autismo y también explorar posibles tratamientos para ellas. Aunque indudablemente los organoides producidos aún están muy lejos de poder equipararse a cerebros adultos.

Como ocurre en la mayoría de los casos el tejido tridimensional generado, tiene la dificultad crucial para poder desarrollarse normalmente de no contar con un sistema vascular propio, lo que limita en gran manera su viabilidad.

Más recientemente[17], un equipo de la Universidad Tufts también ha podido producir una estructura cerebral tridimensional, a partir de neuronas corticales de rata, que posteriormente fueron sembradas en una matriz de fibras de seda. El resultado final fue la consecución de tejido cerebral muy parecido a una estructura cerebral funcionante.

Para conseguirlo, los autores desarrollan una matriz concéntrica, compuesta por seis anillos, que se recelularizan con seis tipos diferentes de células neuronales, que representan las seis capas del córtex de un mamífero. Las células sembradas pudieron desarrollar axones que se proyectaban hacia las diferentes capas, mientras que los cuerpos celulares permanecían fijos dentro de la matriz artificial. Las neuronas producidas podían responder químicamente y eléctricamente de forma similar a neuronas animales.

Según los autores estas experiencias podrían servir para futuros tratamientos de traumatismos cerebrales humanos.

2.4. Pulmón

Las enfermedades pulmonares producen alrededor de 400.000 muertos al año en Estados Unidos[18]. Hoy día la mejor solución para tratar este tipo de afección es el trasplante pulmonar, pero no siempre se consigue el deseado órgano.

Utilizando la misma técnica desarrollada por Doris Taylor para crear un corazón artificial[19] DOI:, en julio de 2010 se publica la producción de un pulmón artificial de ratas, que posteriormente pudo ser trasplantado a otros animales[20].

Para obtener la matriz correspondiente se tratan pulmones de ratas adultas con un detergente hasta conseguir su total descelularización. La matriz obtenida mantiene la estructura de las vías respiratorias y vasculares. Posteriormente esta matriz se rellena con células neonatales de tipo epitelial y con células endoteliales, para producir vasos sanguíneos. El material producido se incuba en un biorreactor para cultivar el epitelio pulmonar y endotelio vascular generados.

Según los autores, las características mecánicas del tejido pulmonar producido es similar al tejido pulmo-

16 Lancaster MA, Renner M, Martin CA, Wenzel D, Bicknell LS, Hurles ME, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. Nature. 2013; 501: p. 373-379.

17 Daskalakis NP, Cohen H, Cai G, Buxbaum JD, Yehuda R. Expression profiling associates blood and brain glucocorticoid receptor signaling with trauma-related individual differences in both sexes. PNAS. 2014; 111: p. 13529-13534.

18 Petersen TH, Calle EA, Zhao L, Lee EJ, Gui L, Raredon MB, et al, op. cit. 10

19 Ott HC, Clippinger B, Conrad C, Schuetz C, Pomerantseva I, Ikonomou L, et al, op. cit. 11

20 Ibid., 10.

nar natural, por lo que puede ser trasplantado a ratas, manteniendo en ellas el intercambio gaseoso durante 45 a 120 minutos.

Aunque estos resultados son estimulantes, queda mucho camino por recorrer antes de conseguir la producción de pulmones completos, pero los mismos sugieren que la recelularización de una matriz pulmonar es una estrategia válida para la producción de tejido pulmonar con posibilidad de ser utilizado en la clínica humana, aunque en un plazo no bien determinado.

Un aspecto para facilitar la trasferencia del tejido pulmonar producido a la clínica humana es que se pueda conseguir epitelio pulmonar autólogo, a partir de células troncales pulmonares o de células iPS.

En agosto de ese mismo año otro grupo investigador también logró producir en ratas un pulmón bioartificial[21], utilizando una técnica similar a la usada por Petersen y su grupo.

Según se comentan en Science[22] los trabajos de Petersen y Ott abren esperanzadoras posibilidades para tratar enfermedades pulmonares y profundizar en el conocimiento de la fisiología pulmonar, pero todavía existen muchos aspectos que deben ser clarificados. Por ejemplo, identificar las mejores fuentes para obtener las células troncales del paciente que sean más efectivas para la recelularización de la matriz descelularizada, con el objetivo de que la barrera entre la sangre y los gases funcione adecuadamente, así como poder conseguir la endotelización vascular completa.

2.5. Hueso

Dos trabajos publicados en PNAS en 2010[23,24], describen la posibilidad de producir estructuras óseas a partir de la recelularización de matrices óseas con células troncales mesenquimales humanas.

En el primero de ellos[25] se parte de una estructura ósea trabecular descelularizada, que posteriormente se recelulariza con células troncales mesenquimales humanas. Tras cinco semanas de cultivo en un biorreactor específico, se constata la formación de tejido óseo, por la aparición de capas laminares propias de dicho tejido. Como en este caso la matriz ósea se obtuvo de hueso craneofacial, los autores comentan la posibilidad de utilizar la técnica para reconstrucciones óseas de esa parte del cuerpo.

En el segundo[26], se parte de una matriz ósea descelularizada obtenida de ratones, que se recelulariza con células troncales mesenquimales humanas de médula ósea y células endoteliales de sangre de cordón umbilical. Las células endoteliales forman estructuras tubulares y posteriormente redes a través de la matriz ósea. A los 11 días se constata una importante asociación de las células mesenquimales trasplantadas con la referida matriz ósea.

Aunque inicialmente esta estructura ósea es muy inmadura y altamente permeable, a las 4 semanas adquiere una estructura más consistente, a la vez que una adecuada mineralización del tejido óseo producido. Es de interés señalar que a los 5 meses aún se podía observar en el tejido producido vasos sanguíneos humanos funcionantes.

Según los autores, a partir de pericitos y células endoteliales se pueden conseguir redes de micro vascularización funcionantes para producir injertos de hueso.

Pero incluso, nos parecen aún más interesantes que las anteriores experiencias, la posibilidad de conseguir estructuras óseas biogeneradas a partir de células iPS del propio paciente. Con esta finalidad se induce la producción de tres líneas de células iPS a partir de células somáticas de tres tipos de tejidos diferentes, que son activadas para que se desdiferencien a células óseas[27].

21 Ibid., 11

22 Wagner WR, Griffith BP. Reconstructing the Lung. Science. 2010; 329: p. 520-522.

23 Grayson WL, Fröhlich M, Yeager K, Bhumiratana S, Chan ME, Cannizzaro C, et al. Engineering anatomically shaped human bone grafts. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010; 107: p. 3299-304.

24 Tsigkou O, Pomerantseva I, Spencer JA, Redondo PA, Hart AR, O'Doherty E, et al. Engineered vascularized bone grafts. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010; 107: p. 3311-6.

25 Grayson WL, Fröhlich M, Yeager K, Bhumiratana S, Chan ME, Cannizzaro C, et al, op. cit. 23.

26 Tsigkou O, Pomerantseva I, Spencer JA, Redondo PA, Hart AR, O'Doherty E, et al, op. cit. 24.

27 de Peppo GM, Marcos-Campos I, Kahler DJ, Alsalman D, Shang L, Vunj G, et al. Engineering bone tissue substitutes from human induced pluripotent stem cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2013; 110: p. 8680-8685.

Las células producidas se transfieren a matrices óseas descelularizadas que se mantienen adecuadamente perfundidas en los correspondientes biorreactores.

Las estructuras óseas producidas tienen la particularidad de ser específicas del paciente del que se han obtenido las células iPS, lo que indudablemente podría favorecer su uso clínico.

2.6. Oreja

La reconstrucción de la oreja sigue siendo un desafío para poder solucionar los problemas que se plantean para tratar algunos defectos auriculares congénitos o adquiridos. Hasta ahora se había intentado utilizando cartílago obtenido de las costillas de los pacientes o implantes rígidos poliméricos, pero estos materiales no siempre tienen la flexibilidad de las orejas reales o su consistencia.

Ahora se describe la posibilidad de crear una oreja bioartificial[28]. Para ello, los autores utilizan un modelo tridimensional que tiene la estructura de la oreja y a partir de él generan un molde, fortaleciéndolo con un armazón de titanio. Finalmente rellenan la matriz producida con condrocitos obtenidos del cartílago auricular de personas adultas. Las orejas así producidas las insertan en la piel de ratas y dejan que evolucionen durante 12 semanas, consiguiendo que la estructura creada vaya adquiriendo la morfología propia de la oreja adulta.

Según los autores, la oreja por ellos bioproducida podría utilizarse para futuras aplicaciones clínicas.

2.7. Ovario

En distintas circunstancias, pero en especial tras un tratamiento de quimioterapia o radioterapia, el ovario puede perder su capacidad funcional, lo que puede hacer infértil a la mujer en cuestión. Para evitarlo, hasta ahora la práctica más utilizada es obtener tejido ovárico, que es crioconservado, para ser reimplantado cuando la mujer ha finalizado su tratamiento antitumoral. La principal dificultad de esta técnica es que el ovario suele dejar de funcionar con el tiempo, no más allá de dos años. Para encontrar una solución más definitiva se ha creado un ovario artificial que puede generar ovocitos funcionantes.

Esto lo ha logrado un equipo de la Universidad Brown, de Nueva York, dirigido por Sandra Arson[29], que utilizando gel de agarosa producen una estructura tridimensional, en forma de panal de abeja, en la que depositan células de la teca, obtenidas de donantes, de 25 a 46 años. A los 72 días las células han proliferado y generado una trama sobre la que posteriormente se depositan ovocitos inmaduros recubiertos de células de la granulosa, también obtenidas de donantes. A partir de los ovocitos inmaduros, el tejido ovárico generado produjo ovocitos funcionantes. La estructura ovárica creada se mantuvo viable durante una semana.

Es ésta la primera vez que se demuestra la posibilidad de producir una estructura tridimensional ovárica, compuesta por los tres tipos de células ováricas, funcionalmente activas.

El ovario artificial creado, según los autores, podrá ser utilizado en un futuro en la fecundación in vitro y también en estudios toxicológicos de los ovocitos.

2.8. Córnea y retina

Una córnea funcionante es necesaria para una visión normal. Numerosas patologías pueden afectarla y hasta hace poco tiempo la única posibilidad terapéutica era el trasplante. Pero como en otros órganos, la disponibilidad de donantes es insuficiente para cubrir las necesidades clínicas. Para solventar el problema la producción de córneas bioartificiales es una atractiva posibilidad. Ya en el año 2003 se realizaron las primeras experiencias con

28 Cervantes TM, Bassett EK, Tseng A, Kimura A, Roscioli N, Randolph MA, et al. Design of composite scaffolds and three-dimensional shape analysis for tissue-engineered ear. J. R. Soc. Interface doi: 10.1098/rsif.2013.0. 2013.

29 Krotz SP, Robins JC, Ferruccio TM, Moore R, Steinhoff MM, Morgan JR, et al. In vitro maturation of oocytes via the pre-fabricated self-assembled artificial human ovary. J Assist Reprod Genet. 2010; 27: p. 743-50.

tal finalidad[30], a las que siguieron otras[31,32], utilizando matrices de córneas humanas descelularizadas. Posteriormente también se utilizaron matrices de córneas de cerdo[33]. Otros autores han seguido produciendo córneas biogeneradas[34,35,36], que, aunque tienen una buena biocompatibilidad, no han logrado reproducir totalmente la microestructura de la córnea natural, lo que al parecer ha sido parcialmente conseguido al producir un material corneal que parece apto para reparar lesiones severas de la córnea[37].

Pero, a nuestro juicio, el paso fundamental se dio en 2011, cuando Eiraku y colaboradores[38] consiguen, por primera vez, la producción de un ojo de ratón embrionario a partir de células troncales embrionarias de ese mismo animal, que son diferenciadas a estructuras tridimensionales, demostrando que el complejo proceso de evaginación de las vesículas ópticas y la posterior invaginación para formar la copa retiniana, ocurre espontáneamente a partir de células troncales embrionarias, a las que posteriormente se añade Matrigel, que aporta componentes de la matriz extracelular, lo que favorece un proceso de morfogénesis, que da lugar a la formación de copas retinianas, que expresan distintos marcadores de células neuronales de retina y células de epitelio de retina pigmentada.

Una prueba de que el material ocular producido son verdaderas retinas, es que cuando éste se cultiva en un medio adecuado las copas ópticas producidas contienen los principales tipos de neuronas retinianas, incluyendo fotoreceptores.

3. Experiencias en animales (Tabla 2)

Un paso adelante en la bioproducción de órganos es que tras generarlos hayan podido ser trasplantados a animales para evaluar su funcionalidad.

3.1. Riñón

Dos equipos de investigación han conseguido casi simultáneamente la creación bioartificial de estructuras renales funcionantes. El primero de ellos, dirigido por HC Ott, publica en Nature Medicine[39] la creación de estructuras renales tridimensionales bioartificiales que posteriormente son trasplantadas a animales, comprobándose que filtraban sangre y producían orina.

Los autores parten de riñones de cadáveres de rata, que son descelularizados utilizando un detergente, hasta conseguir una matriz de tejido conectivo que mantenía su estructura vascular. Después se recelulariza utilizando dos tipos de células: de endotelio de vena umbilical, para promover la formación de vasos sanguíneos y células renales de ratas recién nacidas, para producir los restantes tejidos del riñón. Las células endoteliales vasculares se perfundieron a través de la arteria renal y las de riñón por el uréter. El órgano producido fue primeramente mantenido en un biorreactor y después trasplantado a una rata a la que se había previamente eliminado un riñón.

Aunque el riñón trasplantado era funcionalmente activo, producía alrededor de un tercio de orina de la que produce un riñón normal y filtraba creatinina 36 veces más despacio. Sin embargo *Yong* comenta[40], que muchos pacientes renales se someten a diálisis cuando la función renal cae por debajo de un 15% y que pueden

30 Nishida K. Tissue engineering of the cornea. Cornea. 2003; 22: p. S28-34.

31 Alaminos M, Del Carmen Sánchez-Quevedo M, Muñoz-Avila JI, Serrano D, Medialdea S, Carreras I, et al. Construction of a complete rabbit cornea substitute using a fibrin-agarose scaffold. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2006; 47: p. 3311-7.

32 Rafat M, Li F, Fagerholm P, Lagali NS, Watsky MA, Munger R, et al. PEG-stabilized carbodiimide crosslinked collagen-chitosan hydrogels for corneal tissue engineering. Biomaterials. 2008; 29: p. 3960-72.

33 Gonzalez-Andrades M, de la Cruz Cardona J, Ionescu AM, Campos A, Del Mar Perez M, Alaminos M. Generation of bioengineered corneas with decellularized xenografts and human keratocytes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011; 52: p. 215-22.

34 Duan X, Sheardown H. Dendrimer crosslinked collagen as a corneal tissue engineering scaffold: mechanical properties and corneal epithelial cell interactions. Biomaterials. 2006; 27: p. 4608-17.

35 Lawrence BD, Marchant JK, Pindrus MA, Omenetto FG, Kaplan DL. Silk film biomaterials for cornea tissue engineering. Biomaterials. 2009; 30.

36 Hisatoshi K, Masabumi K, Tetsushi T, Toshiyuki I, Hideyuki M, Shigeto S, et al. Collagen immobilized PVA hydrogel-hydroxyapatite composites prepared by kneading methods as a material for peripheral cuff of artificial cornea. Mat Sci Eng. 2004; 24: p. 729-35.

37 Luo H, Lu Y, Wu T, Zhang M, Zhang Y, Jin Y. Construction of tissue-engineered cornea composed of amniotic epithelial cells and acellular porcine cornea for treating corneal alkali burn. Biomaterials. 2013; 34: p. 6748-59.

38 Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, Kawada M, Sakakura E, Okuda Sea. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. Nature. 2011; 472: p. 51–56.

39 Ibid., 7.

40 Yong E. Lab-grown kidneys transplanted into rats. Nature News. 2013 April.

Tabla 2. Experiencias en animales.

ÓRGANO	TRABAJOS	AÑO	FINALIDAD DEL TRABAJO	FUENTE REGENERATIVA	RESULTADOS
Riñón	Song, J J et al. (15)	2013	Creación de estructuras renales tridimensionales que son trasplantadas a animales	Riñones de rata descelularizados / recelularizadas con endotelio de vena umbilical y células renales de ratas recién nacidas	El riñón trasplantado es funcionalmente activo
	Xia, Y et al. (16)	2013	Producción de estructuras tridimensionales de riñón humano a partir de células pluripotenciales	Células troncales, embrionarias y células iPS procedentes de células humanas de piel y células renales de ratón	El tejido producido expresa marcadores células renales
Injertos vasculares	Dahl SM et al. (17)	2011	Producción de injertos vasculares en babunes	Matriz tubular de ácido poliglicólico / celularizado con células troncales alogénicas humanas o de músculo canino	Las propiedades mecánicas de los injertos vasculares producidos eran similares a las de los vasos sanguíneos humanos
Glóbulos rojos	Giarratana MC et al. (18)	2011	Producción de glóbulos rojos que se trasplantan a ratones	Células periféricas CD34+ HSC	El porcentaje de células circulantes era del 41% al 63%
Hígado	Uygun BE et al. (19)	2010	Producción de tejido tridimensional hepático	Matrices de hígado descelularizadas de ratas / recelularizados con hepacitos adultos	El tejido hepático producido se trasplanta a ratas con un hígado lesionado. Se consigue reponer la función hepática
	Takebe T et al. (20)	2013	Producción de brotes de hígado humanos que se trasplanta a distintos tipos de animales	Células iPS del propio paciente, células endoteliales de cordón umbilical y células troncales mesenquimales	Producción de estructuras tridimensionales vascularizadas de hígado
Hipófisis	Suga, H et al. (21)	2011	Producción de una estructura tridimensional de adenohipófisis	Células troncales embrionarias de ratón	La estructura hipofisaria producida injertada en ratones vivos regula los niveles de glucocorticoides anormales
Páncreas	Kobayashi T et al. (22)	2010	Producción de páncreas biogenerado en ratones	Células iPS de ratas y blastocistos de ratones	Se consigue la producción de tejido pancreático funcionante
Piel	Garzón I et al. (23)	2013	Producción de piel humana	Matriz de fibrina y agarosa / celularizada con células troncales procedentes de gelatina de Warton del cordón umbilical	Tras el injerto en animales vivos se comprueba la producción de epitelio funcionante
	Klar AS et al. (24)		Obtención de tejido epitelial en ratas	Células adiposas	Tras trasplantarlo a ratas se anastomosa con la estructura vascular del animal receptor
Glándulas lagrimales	Hirayama M et al. (25)	2013	Bioproducción de glándulas lagrimales que se trasplantan a ratones adultos	Células epiteliales mesenquimales de glándulas lagrimales de embriones	Las glándulas bioproducidas muestran funcionalidad fisiológica
Glándulas salivares	Ogawa M et al. (26)	2013	Producción de glándulas salivares funcionales que se trasplantan a ratones adultos	Células epiteliales y mesenquimales	Las glándulas bioproducidas producen saliva en respuesta a la administración de pilocarpina o estimulación gustativa. Si son trasplantadas a ratones con un defecto funcional de las glándulas salivares se regenera la función salival en los mismos
Pene	Chen, KL et al. (27)	2010	Producción de un pene bioartificial en modelo animal	Matriz de colágeno del cuerpo cavernoso / celularizada con células troncales autólogas de tejido muscular y endocelulares	El pene producido permite la copulación de los animales trasplantados
Músculo	Juhasa M et al. (28)	2014	Producción de tejido muscular que se trasplantan a animales	Sustrato de hidrogel /celularizado con células de músculo de roedores	Tras ser implantado en roedores el tejido muscular producido se fija adecuadamente en la lesión muscular, siendo funcionalmente activo

evitar la hemodiálisis si su riñón funciona un 20%, lo que podría apuntar a la posibilidad de utilizar con eficacia clínica los riñones bioproducidos.

En el segundo, publicado en Nature Cell Biology[41], el equipo de Juan Carlos Izpisua describe la producción de estructuras tridimensionales de riñón a partir de células troncales, embrionarias y células iPS procedentes de células humanas de piel. En principio obtuvieron células de primordio mesentérico, para después cultivarlas con células renales de ratón, consiguiendo la producción de estructuras tridimensionales renales. Las células producidas mostraban una rápida y específica expresión de marcadores renales al cuarto día de exposición a determinados medios de cultivo.

En otra experiencia el mismo equipo obtiene células iPS a partir de un paciente con riñón poliquístico, que como se sabe, tienen una función renal disminuida, lo que permitió generar estructuras tridimensionales renales, probablemente útiles para profundizar en el conocimiento de esta alteración genética renal.

3.2. Injertos vasculares

Se han utilizado rutinariamente injertos vasculares producidos a partir de material autólogo o sintético en hemodiálisis o en bypasses arteriales en pacientes cardiovasculares.

Hasta la fecha los injertos vasculares producidos por ingeniería tisular, se consiguieron cultivando células troncales autólogas de medula ósea sobre una matriz de diversos polímeros o fibroblastos autólogos o células endoteliales sin matriz alguna. Los injertos producidos han mostrado prometedores resultados clínicos en los ensayos hasta ahora realizados.

Sin embargo, los injertos generados por estos sistemas requieren para su producción de seis a nueve meses de cultivo, en los cuales los fibroblastos autólogos producen el tejido generado lo que, sin duda, es una dificultad para su posible uso clínico. Esta técnica tiene además otro inconveniente, el elevado coste, aproximadamente 15.000 dólares por injerto. Así pues, parece muy conveniente desarrollar nuevas técnicas que abaraten el proceso y que reduzcan el tiempo para conseguir los injertos.

Con estos objetivos un equipo de investigadores norteamericano ha conseguido producir injertos vasculares generados artificialmente, con un diámetro mayor o igual a 6 milímetros[42].

Cuando los injertos generados solamente requerían para su uso un diámetro de 3 o 4 milímetros, el tiempo de generación del injerto se podía reducir a menos de un mes.

En este trabajo en concreto se utilizan células troncales alogénicas humanas o de músculo canino, a las que se hace crecer sobre una matriz tubular de ácido poliglicólico. Las propiedades mecánicas de los injertos vasculares producidos eran similares a las de los vasos sanguíneos humanos y podían conservarse largo tiempo a 4 grados centígrados. Los injertos mostraban resistencia a la presión, no calcificación e íntima hiperplasia.

Los injertos producidos se evaluaron en babunes en proceso de diálisis. También se evaluaron injertos caninos en un modelo animal de bypasses periféricos y coronarios[43].

Según los autores los injertos biogenerados pueden constituir una esperanzadora opción para pacientes en los que no existe tejido autólogo para ser utilizado o en aquellos otros que tienen dificultades para recibir injertos sintéticos.

3.3. Glóbulos rojos

La generación de glóbulos rojos artificialmente in vitro puede ser una alternativa útil a las trasfusiones sanguíneas realizadas por el método habitual. Ello es interesante si se tiene en cuenta que las necesidades mundiales anuales de unidades de glóbulos rojos para ser trasfundidos son aproximadamente de 90 millones.

41 Xia Y, Nivet E, Sancho-Martinez I, Gallegos T, Suzuki K, Okamura D, et al. Directed differentiation of human pluripotent cells to ureteric bud kidney progenitor-like cells. Nature Cell Biology. 2013; 15: p. 1507–1515.

42 Dahl SML, Kypson AP, Lawson JH, Blum JL, Strader JT, Li Y. Readily Available Tissue-Engineered Vascular Grafts. Sci Transl Med. 2011 February; 2: p. 3:68ra9.

43 Dahl SML, Kypson AP, Lawson JH, Blum JL, Strader JT, Li Y. op. cit 42.

Por ello, la posibilidad de obtener nuevas fuentes de hemoglobina es un reto objetivo e incluso necesario.

En este sentido diversos grupos de investigación que trabajan en el área de la hematopoyesis han intentado durante años, sin éxito, desarrollar un método que permitiera la generación de células troncales hematopoyéticas a partir de células troncales, tanto embrionarias como adultas[44]. Por ello, la bioproducción de glóbulos rojos se plantea como un interesante objetivo.

En relación con ello, en un trabajo publicado en 2011[45], se evalúa la capacidad de glóbulos rojos producidos in vitro para sobrevivir en humanos. La técnica utilizada consiste en diferenciar eritrocitos a partir de células periféricas $CD34^+$ HSC. Utilizando dicha técnica se consigue producir una población homogénea de glóbulos rojos funcionantes en términos de deformabilidad, contenido enzimático y capacidad de su hemoglobina para fijar oxígeno, a la vez que expresan correctamente los antígenos de los grupos sanguíneos. Los autores inyectan los glóbulos rojos así producidos en ratones en los que se completa su maduración.

El porcentaje de células circulantes a los 26 días de la inyección de los glóbulos rojos, era del 41% al 63%, lo que es positivo si se tiene en cuenta que estos porcentajes no se alcanzan a los 28 días de trasfundir glóbulos rojos nativos humanos.

Según los autores del trabajo, la posibilidad de utilizar glóbulos rojos biogenerados podría, en un próximo futuro, solventar las deficiencias de glóbulos rojos que hoy día existen en la clínica médica.

3.4. Hígado

Como en otros órganos, la obtención de hígados para trasplantar es también deficitaria, por lo que urge encontrar fuentes alternativas. En este sentido en Estados Unidos hay un déficit de unos 4000 hígados al año[46]. Como en otras circunstancias una posibilidad de solucionar el problema es la producción de hígados bioartificiales.

Para ello, se han propuesto dos vías, utilizar matrices descelularizadas y posteriormente recelularizadas y las más novedosas usar células iPS del propio paciente para la recelularización.

En el primer caso, se han utilizado matrices de hígado descelularizadas de ratas utilizando una solución de detergentes[47]. El proceso de descelularización preserva en la matriz obtenida las características estructurales de la primitiva red vascular, lo que permite una eficaz recelularización con hepacitos adultos y la subsiguiente perfusión del bioórgano obtenido.

Siguiendo este procedimiento el órgano bioproducido expresa las funciones propias de un hígado nativo, incluyendo la secreción de albumina, la síntesis de urea y la expresión del citocromo P450, a niveles similares a los de un hígado normal. Los hígados producidos han podido ser trasplantados a ratas con un hígado lesionado, consiguiendo mantener en ellas la función hepática prácticamente normal, con un daño isquémico mínimo.

Sin embargo, la creación de hígados completos aun parece distante, pues para conseguirlo se necesitaría la adición de células no parenquimatosas, como pueden ser células de endotelio sinusal, de epitelio biliar y células de Kupffer.

En el segundo, Takebe y colaboradores, de la Universidad de Yokohama, producen estructuras hepáticas a partir de células iPS del propio paciente, que después son derivadas a células hepáticas y de ellas obtienen brotes o yemas de tejido hepático funcionante, de un tamaño aproximado de 4mm[48].

Para la obtención de los brotes hepáticos los autores utilizan tres tipos de células. Primero células iPS, que introducidas en un nicho de células hepáticas expresan genes correspondientes a ellas. Después, añaden células

44 Slukvin II. Hematopoietic specification from human pluripotent stem cells: current advances and challenges toward de novo generation of hematopoietic stem cells. Blood. 2013; 122: p. 4035-4046.

45 Giarratana MC, Rouard H, Dumont A, Kiger L, Safeukui I, Le Pennec PY, et al. Proof of principle for transfusion of in vitro–generated red blood cells. Blood. 2011; 118: p. 5071-5079.

46 Uygun BE, Soto-Gutierrez A, Yagi H, Izamis ML, Guzzardi MA, Shulman C, et al, op. cit. 13.

47 Ibid., 13.

48 Takebe T, Sekine K, Enomura M, Koike H, Kimura M, Ogaeri T, et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. Nature. 2013; 499: p. 481-484.

endoteliales de cordón umbilical, que favorece la endotelización de los vasos producidos y finalmente células troncales mesenquimales. Un aspecto peculiar de las experiencias de Takebe y col es que trasplantan los brotes de hígado producidos a dos sitios diferentes en los animales receptores: cráneo e hígado. Al trasplantarlos al cráneo se puede observar directamente la evolución del trasplante, cubriendo la apertura craneal con un cristal, que permite su observación microscópica.

Según los autores, aunque hasta ahora se han publicado diversos trabajos en los que se describe la obtención de células hepáticas a partir de diversos tipos de células troncales, no se había conseguido la producción de estructuras tridimensionales vascularizadas de hígado, como en este caso se ha logrado, a partir de células iPS del propio paciente, y la posibilidad de trasplantar a animales los brotes o yemas hepáticos producidos.

Por técnicas inmunológicas y de expresión génica, se demuestra la similitud de los brotes hepáticos creados a partir de las células iPS con yemas de hígado nativo vivo.

A las 48 horas del trasplante el sistema vascular de los brotes transferidos se conecta con el del animal-huésped, lo que favorece la maduración de los brotes trasplantados hasta diferenciarse a tejido hepático adulto, que expresa las funciones propias de un hígado nativo, tales como la producción de proteínas específicas y la posibilidad de metabolizar fármacos que específicamente se metabolizan en el hígado adulto nativo[49].

Según los autores, esta es la primera vez en la que se demuestra la producción de un órgano funcional humano a partir de células iPS del propio paciente.

Valerie Gouon-Evans, del Hospital Monte Sinaí de Nueva York, opina que es ésta una importante experiencia, porque los brotes creados son mantenidos funcionantes por el propio sistema vascular del animal al que se trasplantan, lo que permite la proliferación in vivo del tejido trasplantado y el mantenimiento de su función, aunque también, según la referida autora, los animales trasplantados deberían ser observados durante algunos meses para comprobar si las células trasplantadas se degeneran o producen tumores[50].

Aunque aún habrá que realizar notables esfuerzos para poder trasladar estas técnicas a la clínica humana, es ésta una esperanzadora posibilidad para poder tratar pacientes hepáticos dentro del novedoso campo de la medicina regeneradora.

3.5. Hipófisis

En los vertebrados la hipófisis regula importantes funciones fisiológicas, como son el crecimiento, el control de la pubertad y la reproducción. En los humanos las anomalías de la hipófisis pueden ser congénitas o adquiridas. Aunque la terapia hormonal puede ser efectiva en estos pacientes, tiene la desventaja de que no restablece la normal función de la hipófisis, sino que únicamente la sustituye, por lo que desarrollar nuevas posibilidades terapéuticas para tratar la insuficiencia hipofisaria es de gran interés.

En 2011, Sasai y col publican un artículo en Nature, en el que describen la producción de una estructura tridimensional de adenohipófisis a partir de células troncales embrionarias de ratón. Las células troncales embrionarias son estimuladas para diferenciarse en ectodermo y neuroectodermo hipotalámico formando capas adyacentes. Así, se consigue la formación de estructuras tridimensionales de primordios hipofisarios y la generación de varios tipos de células con actividad hormonal, tanto corticotropa como somatotropa. Las células corticotropas secretan adrenocorticotropina cuando el tejido producido se estimula con hormona liberadora de corticotropina. Cuando la estructura hipofisaria producida se injerta en ratones vivos se pueden regular los niveles de glucocorticoides si no son normales[51].

Es decir, estas experiencias demuestran que se puede bioproducir tejido con las funciones de la hipófisis anterior a partir de células troncales embrionarias.

49 Takebe T, Sekine K, Enomura M, Koike H, Kimura M, Ogaeri T, et al, op. cit. 48.

50 Baker M. Miniature human liver grown in mice. Nature. 2013 July 03.

51 Suga H, Kadoshima T, Minaguchi M, Ohgushi M, Soen M, Nakano T, et al. Self-formation of functional adenohypophysis in three-dimensional culture. Nature. 2011; 480: p. 57–62.

De acuerdo con los autores estas experiencias abren la puerta para que, utilizando células troncales pluripotentes se vaya viendo la posibilidad de tratar diversas enfermedades endocrinas no diabéticas, lo que hasta ahora no se había planteado dentro del amplio campo de la medicina regenerativa.

3.6. Páncreas

El Pdx1 es un factor de transcripción tipo HoX, que juega un papel crítico en el desarrollo del páncreas y en la maduración de las células β. La deficiencia homocigótica del Pdx1 en ratones condiciona su fallecimiento prematuro, debido a una insuficiencia pancreática. De esta forma ratones generados con una deficiencia de Pdx1 ($Pdx1^{-/-}$) podrían ser utilizados para comprobar si su deficiencia puede ser solucionada por la transferencia de tejido pancreático neoformado.

En un trabajo publicado en Cell, se obtienen células iPS de ratas, que se inyectan en blastocistos de ratones $Pdx1^{-/-}$, que muestran una deficiencia en la formación de su páncreas, consiguiéndose la formación de un páncreas nuevo en dichos ratones $Pdx1^{-/-}$, que naturalmente ha sido generado a partir de células iPS utilizadas.

En este trabajo se proponen tres innovadoras observaciones: a) un nicho carente de células pancreáticas, en ratones $Pdx^{-/-}$, puede ser ocupado por células derivadas de las iPS del donante de las células adultas, formando a partir de ellas un páncreas funcionante; b) la producción de quimeras de ratón y ratas es posible si se inyectan células iPS de ratón o rata en embriones de otras especies. Las células iPS inyectadas se distribuyen por todo el cuerpo del animal receptor, mostrando actividad funcional normal y c) combinando las dos posibilidades anteriores se puede generar, tejido pancreático inyectando en embriones de ratones $Pdx1^{-/-}$, células iPS de rata. A esta técnica los autores la denominan "complementación interespecífica de blastocistos"[52].

Según los autores utilizando esta técnica se pueden producir órganos bioartificiales derivados de células iPS, en este caso páncreas.

3.7. Piel

Hasta ahora se ha podido producir piel artificial, generalmente a partir de piel sana del propio paciente, pero los métodos utilizados requieren varias semanas para conseguirlo, lo que constituye una limitación para su uso clínico. Por ello, poner a punto técnicas que permitan reducir el tiempo de producción puede ser útil. Dos recientes trabajos tratan de solventar este problema produciendo piel a partir de distintos precursores celulares.

En el primero de ellos[53], se ha logrado producir piel artificial, por primera vez, utilizando células troncales procedentes de gelatina de Warton del cordón umbilical, demostrando su capacidad para diferenciarse en células de mucosa oral y epiteliales. Para producir el tejido epitelial, se usa un modelo tridimensional, que mimetiza las interacciones entre las células epiteliales y mesenquimales, cultivadas sobre una matriz de fibrina y agarosa.

Es de señalar que las células troncales utilizadas no se pudieron diferenciar en células epiteliales cuando ello se intentó in vitro, sin embargo, cuando el material biológico obtenido se injertó in vivo, se pudo comprobar que se estratificaba y expresaba marcadores típicos del epitelio diferenciado, tales como citoqueratinas, placoglobina, filaguina e involucrina, a la vez que mostraba una estructura bicelular como la del epitelio superficial[54,55,56,57]. Además, cuando la piel producida se analizó por microscopía electrónica se pudo comprobar la presencia de células similares a las epiteliales y puentes de unión entre ellas.

Según los autores, los resultados de su trabajo sugieren que es posible diferenciar células de mucosa y

52 Kobayashi T, Yamaguchi T, Hamanaka S, Kato-Itoh M, Yamazaki Y, Ibata M, et al. Generation of rat pancreas in mouse by interspecific blastocyst injection of pluripotent stem cells. Cell. 2010; 142: p. 787-99.

53 Garzón I, Miyake J, González-Andrades M, Carmona R, Carda C, Sánchez-Quevedo MC, et al. Wharton's jelly stem cells: a novel cell source for oral mucosa and skin epithelia regeneration. Stem Cells Transl Med. 2013; 2: p. 625-32.

54 The Scientist, op. cit. 1.

55 Pfister O, Della Verde G, Liao R, Kuster GM, op. cit. 4.

56 Song JJ, Guyette JP, Gilpin SE, Gonzalez G, Vacanti JP, C OH, op. cit. 9.

57 Lu T, Lin B, Kim J, Sullivan M, Tobita K, Salama Gea, op. cit. 14.

epiteliales de piel in vivo y crear estructuras tridimensionales epiteliales, lo que se podría aplicar en lesiones de la mucosa oral y de piel, con la particularidad de que su producción se consigue más rápidamente que con los métodos hasta ahora utilizados, lo que puede ser una objetiva ventaja clínica.

En el segundo trabajo, se utilizan células adiposas como fuente para la producción de las células epiteliales[58].

Es sabido que uno de los mayores problemas de los injertos de piel es que tras ser trasplantados requieren un tiempo para su adecuada consolidación, poder diferenciarse, y también que se pueden producir escaras y retracciones dérmicas. Para evitar dichas limitaciones los autores proponen la producción de tejido epitelial bioproducido, lo que consiguen usando una fracción de estroma vascular adiposo del propio paciente del que se derivan las consabidas células epiteliales. El tejido producido tiene un plexo capilar eficiente, lo que es fundamental para consolidar el trasplante.

Cuando el tejido epitelial bioproducido se trasplanta a ratas inmuno-deficientes, éste se anastomosa con la estructura vascular del animal receptor en solamente cuatro días, lo que permite que el material transferido no genere escaras, ni contracciones indeseables.

Según los autores, el tejido epitelial por ellos producido abre nuevas posibilidades para el tratamiento de alteraciones de la piel, especialmente tras quemaduras, cirugía plástica y otras alteraciones dermatológicas.

3.8. Glándulas lagrimales

Las glándulas lagrimales tienen una importante función en el mantenimiento de la homeostasis ocular a través de la secreción lagrimal. La enfermedad del ojo seco, en la que existe una deficiente producción de lágrimas es consecuencia de una disfunción de la glándula lagrimal, que puede deberse a una enfermedad ocular o a lesiones externas. La causa patológica más frecuente es el síndrome de Sjogren, aunque también puede ser propiciada por la edad, por un exceso de trabajo ocular, por ambientes secos, lentes de contacto o cirugía refractiva. Este trastorno es una de las enfermedades oculares más prevalentes y puede ocasionar un daño en el epitelio corneal.

Para restaurar la lesión de la glándula lagrimal se han puesto a punto distintas acciones terapéuticas como trasplante de glándulas salivares y medicina regenerativa. En este trabajo se describe la bioproducción de glándulas lagrimales y el trasplante de las mismas a ratones adultos, que poseen un defecto de las glándulas lagrimales extra-orbital, un modelo animal que mimetiza el daño epitelial de la córnea causado por una disfunción lagrimal.

Para producir las glándulas bioartificiales utilizan células de epitelio y tejidos mesenquimales de glándulas lagrimales de embriones de dieciséis días y medio. Después de un día en cultivo se desarrollan interacciones entre las células endoteliales y mesenquimales, que conducen a la producción de un primer brote de células lagrimales. A los tres días de cultivo esas glándulas lagrimales germinales van adquiriendo la correspondiente morfogénesis lagrimal. Estas glándulas bioproducidas muestran funcionalidad fisiológica, incluyendo producción de lágrimas, como respuesta a estímulos nerviosos, suficiente para una adecuada protección ocular[59].

Según los autores este trabajo demuestra la posibilidad de generar glándulas lagrimales bioproducidas, que pueden normalizar, tras ser trasplantadas, la función lagrimal en animales que la tienen alterada.

3.9. Glándulas salivares

En este trabajo se demuestra la producción de glándulas salivares funcionales y su posible trasplante y desarrollo en ratones adultos que sufren una defectuosa función de dichas glándulas.

58 Klar AS, Güven S, Biedermann T, Luginbühl J, Böttcher-Haberzeth S, Meuli-Simmen C, et al. Tissue-engineered dermo-epidermal skin grafts prevascularized with adipose-derived cells. Biomaterials. 2014; 35: p. 5065-7.

59 Hirayama M, Ogawa M, Oshima M, Sekine Y, Ishida K, Yamashita K, et al. Functional lacrimal gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ. Nature Communications. 2013; 4: p. 1-10.

En primer lugar se promueve la producción de brotes glandulares a partir de células epiteliales y mesenquimales. Tras el primer día de cultivo en los brotes glandulares generados se observan interacciones entre las células epiteliales y mesenquimales, paso inicial para desarrollar un primer brote de glándulas salivares. A los tres días de cultivo empieza a generarse saliva en los ductos de los brotes glandulares bioproducidos. Posteriormente, los brotes glandulares se desarrollan hasta constituir una glándula madura, con formaciones acinares, mioepitelio e inervación.

Las glándulas bioproducidas producen saliva en respuesta a la administración de pilocarpina o estimulación gustativa. La saliva producida es eficaz contra posibles infecciones bacterianas.

Si estas glándulas bioproducidas son trasplantadas a ratones con un defecto funcional de las glándulas salivares se regenera la función salival en los mismos[60].

Según los autores, este trabajo demuestra la posibilidad de bioproducir glándulas salivares funcionantes para ser utilizadas en la medicina regenerativa de este tipo de glándulas y especialmente como un potencial tratamiento de la xerostomía.

3.10. Pene

En circunstancias tales como anomalías congénitas, cáncer y lesiones traumáticas del pene o disfunción eréctil de causa vascular, se pueden utilizar técnicas quirúrgicas para corregir las anomalías funcionales o anatómicas del pene, aunque en muchos casos no se consigue normalizar su función. Por ello, la posible producción de un pene bioartificial puede ser útil. Esto es lo que intenta el equipo de Anthony Atala en un modelo animal, en el que una matriz de colágeno del cuerpo cavernoso se recelulariza con células troncales autólogas de tejido muscular y endocelulares, obtenidas de biopsias corporales y expandidas in vitro. El órgano producido tiene parámetros estructurales y funcionales similares al órgano nativo[61].

Es decir, los autores consiguen la construcción e implantación de un pene bioartificial, que permite la copulación de los animales. Igualmente, según ellos, esta tecnología puede ser potencialmente útil para pacientes que requieren una reconstrucción del pene.

3.11. Músculo

Para la producción de tejido muscular se utilizan células de músculo de roedores, que se cultivan en un sustrato de hidrogel hasta formar el referido tejido muscular[62]. Tras su producción es capaz de contraerse en un medio de laboratorio. Después de implantardo en roedores se pudo comprobar que se fijaba adecuadamente en la lesión muscular y que el musculo producido se contraía de forma similar al músculo nativo.

Aunque estudios previos habían podido desarrollar tejido muscular en el laboratorio, sin embargo el que se haya podido trasplantar el tejido producido a un animal vivo, que se haya implantado adecuadamente y que exprese la actividad funcional de un músculo nativo es la primera vez que se consigue.

Para producir el músculo biogenerado se utiliza una matriz proteica obtenida de vejigas de cerdos descelularizadas[63]. Con ello, se consigue que las células existentes en la vejiga con capacidad inmunógena sean eliminadas, lo que facilita la implantación y disminuye los riesgos de rechazo inmunológico.

La matriz obtenida se implanta en ratones con lesiones experimentales en sus cuádriceps. Dos semanas después de ser implantada la matriz se había recelularizado con células musculares, regeneración que se mantuvo más de seis meses después del implante, siendo lo más significativo que el músculo regenerado en los ratones fue eventualmente inervado y vascularizado.

Estas positivas experiencias animaron al mismo equipo a iniciar un ensayo clínico en pacientes con lesiones musculares en los que después de al menos seis

60 Ogawa M, Oshima M, Imamura A, Sekine Y, Ishida K, Yamashita K, et al. Functional salivary gland regeneration by transplantation of a bioengineered organ germ. Nature Communications. DOI: doi:10.1038/ncomms3498, 2013; 4.

61 Chen KL, Eberli D, Yoo JJ, Atala A. Bioengineered corporal tissue for structural and functional restoration of the penis. PNAS. 2010; 107: p. 3346–3350.

62 Mark Juhasa GCEJaANFGMPaNB. Biomimetic engineered muscle with capacity for vascular integration and functional maturation in vivo. PNAS. 2014; 111(15): p. 5508–13.

63 Sicari B, Rubin J, Dearth C, Wolf M, Ambrosio F, Boninger M, et al. An Acellular Biologic Scaffold Promotes Skeletal Muscle Formation in Mice and Humans with Volumetric Muscle Loss. Sci. Transl. Med. 2014; 6(234): p. 234-58.

meses de terapia física no se había evidenciado ningún progreso. Se incluyeron en el ensayo cinco pacientes varones.

Las lesiones musculares se habían producido entre 13 meses y 7 años antes y se había perdido entre el 58% y el 90% de tejido muscular en la región lesionada. Los pacientes habían recibido terapia física durante 12 a 16 semanas. En el momento de realizar el implante se removió la escara existente y se implantó la matriz extracelular de vejiga de cerdo. A los pocos días se continuó con la terapia física, que se prolongó durante 25 semanas. En todos los pacientes se pudo comprobar regeneración muscular, que en tres de ellos era completa en el periodo de observación y en dos parcial.

4. Experiencias en humanos (Tabla 3)

El último paso es la valoración de la utilidad clínica de los órganos bioproducidos humanos. Hasta ahora son pocas las experiencias llevadas a cabo, pero ya se van consiguiendo logros positivos.

4.1. Cartílago nasal

Los cánceres de piel distintos al melanoma (carcinomas de células basales y de células escamosas) son los tumores de piel más frecuentes en los individuos de raza blanca. Su extirpación quirúrgica puede condicionar la pérdida del lóbulo alar de la nariz, lo que requiere una reconstrucción quirúrgica. Sin embargo, recientemente se ha propuesto reponer el daño con un trasplante de cartílago nasal autólogo bioproducido sobre una matriz descelularizada de cartílago fibroso y hialino porcino, posteriormente recelularizada con condrocitos del propio paciente obtenidos de su septum nasal[64].

Esta técnica se ha utilizado por primera vez en cinco pacientes, dos mujeres y tres hombres, de entre 76 y 88 años.

A los 12 meses de la reconstrucción se pudo comprobar que no existían complicaciones objetivas, pero sí que se había regenerado parte de la nariz lesionada. Los pacientes se mostraron satisfechos pues la recuperación de la función nasal había sido muy positiva. Estas experiencias preliminares abren la puerta a un ensayo clínico más amplio y más a largo plazo, en el cual se comparen los resultados con las técnicas quirúrgicas habituales.

4.2. Vasos sanguíneos

Tras descelularizar un segmento de 9 centímetros de la vena ilíaca de un donante cadáver se obtuvo una matriz proteica, que posteriormente fue recelularizada con células troncales de la médula ósea de la paciente. Este fragmento venoso bioproducido se utilizó para recuperar la circulación hepática en una niña de 10 años que padecía una obstrucción extra hepática de la vena porta[65]. Dos semanas después de producida la vena artificial, se practicó un bypass entre la vena mesentérica superior y la vena porta izquierda intrahepática, restableciéndose el flujo sanguíneo normalmente.

Sin embargo, al año se comprobó un descenso del flujo, lo que obligó a un nuevo trasplante, para el que también se utilizó una vena bioproducida, recuperándose el flujo sanguíneo con normalidad.

4.3. Vagina

En diversas circunstancias se puede requerir la reconstrucción de la vagina, especialmente en anormalidades congénitas, lesiones tras traumas o cáncer. Cuando se lleva a cabo una reconstrucción vaginal en la que no se utiliza material autólogo, se suelen presentar objetivas complicaciones. Por ello, parece de interés la posibilidad de obtener vaginas bioproducidas autólogas para ser utilizadas en las referidas reconstrucciones vaginales.

En un reciente trabajo se describe la bioproducción de cuatro vaginas, que se utilizan en cuatro pacientes

64 Fulco I, Miot S, Haug M, Barbero A, Wixmerten A, Feliciano S, et al. Engineered autologous cartilage tissue for nasal reconstruction after tumour resection: an observational first-in-human trial. The Lancet. 2014; 384(9940): p. 337-46.

65 Olausson M, Patil P, Kuna V, Chougule P, Hernandez N, Methe K, et al. Transplantation of an allogeneic vein bioengineered with autologous stem cells: a proof-of-concept study. Lancet. 2012; 380(9838): p. 230-7.

Tabla 3. Experiencias en humanos.

ÓRGANO	TRABAJOS	AÑO	FINALIDAD DEL TRABAJO	FUENTE REGENERATIVA	RESULTADOS
Músculo	Sicari BM et al. (29)	2014	Producción de tejido muscular y su trasplante a humanos	Matriz proteica de vejigas descelularizadas de cerdos	Se comprueba la regeneración muscular en humanos
Cartílago nasal	Fulco I et al. (30)	2014	Producción de cartílago nasal y su uso en humanos	Matriz descelularizada de cartílago fibroso y hialino porcino / recelularizado con condrocitos del propio paciente obtenidos de su septum nasal	Se consigue regenerar parte de la matriz lesionada
Vasos sanguíneos	Olausson M et al. (31)	2012	Uso clínico para solventar la obstrucción extra hepática de la vena porta	Vena ilíaca de un donante cadáver descelularizada / recelularizada con células troncales de la médula ósea de la paciente	Tras un bypass entre la vena mesentérica superior y la vena porta izquierda intrahepática se restablece el flujo sanguíneo normal
Vagina	Raya-Rivera AM et al. (32)	2014	Ensayo clínico en cuatro pacientes con síndrome de Rokitansky	Matriz biodegradable obtenida de submucosa intestinal porcina descelularizada / recelularizada con células musculares y epiteliales de material vulvar cultivada de cada paciente	Normal desarrollo del bioórgano producido en las cuatro pacientes
Uretra	Raya-Rivera AM et al. (33)	2011	Ensayo clínico en cinco niñas	Matriz de ácido poliglicólico / celularizado con células musculares y epiteliales de biopsias de vejiga de las propias niñas	Tras siete días se forman estructuras tubulares de uretra. A los 3 meses de la implantación la estructura del tejido uretral era normal
Tráquea	Macchiarini P et al. (34)	2008	Uso en una paciente de 30 años	Matriz descelularizada de tráquea humana / recelularizada con células troncales epiteliales y condrocitos derivados de células troncales mesenquimales de la propia paciente	Tras el trasplante la paciente recuperó su capacidad respiratoria normal y mejoró su calidad de vida
	Laurance J (35)	2010	Uso en un niño con estenosis congénita de tráquea	Matriz descelularizada de tráquea humana /recelularizada con células troncales de médula ósea de costilla del propio paciente	Tras el trasplante el niño mostró una mejoría estable, que se mantenía dos años más tarde
	Jungebluth P et al. (36)	2011	Uso en varón con cáncer de la parte distal de la tráquea y bronquios proximales.	Matriz bioartificial recelularizada / con células troncales del propio paciente	Tras el trasplante el paciente se mostró asintomático y sin problemas respiratorios

con aplasia vaginal por sufrir un síndrome de Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser. Las pacientes tenían una edad de entre 13 y 18 años.

Para la bioproducción de la vagina se obtuvo una biopsia de material valvular de cada paciente, que fue cultivada y expandida para la producción de un número suficiente de células musculares y epiteliales. El tejido producido fue posteriormente transferido a una matriz biodegradable obtenida de submucosa intestinal porcina descelularizada que se cultivó en un sistema incubador.

Las vaginas bioproducidas fueron trasplantadas a las cuatro jóvenes. Tras el trasplante no se observaron efectos secundarios postquirúrgicos negativos. Para el seguimiento clínico se realizaron biopsias anuales del material trasplantado, que mostraron una estructura trilaminar de epitelio que recubría la luz del órgano, rodeada por tejido muscular, todo ello con la apariencia de una estructura orgánica similar a la de una vagina normal.

Por técnicas inmunohistoquímicas se pudo confirmar la existencia en la vagina bioproducida de células musculares y epiteliales normales. Así mismo, por resonan-

cia nuclear magnética, con la que previamente se había confirmado la aplasia vaginal, se pudo evidenciar el normal desarrollo del bioórgano producido, lo que fue confirmado por una vaginoscopia realizada anualmente.

A cada una de las 4 pacientes se les paso un cuestionario para evaluar su función sexual que no mostró anomalías explicitas[66].

Estas experiencias confirman la posibilidad de obtener vaginas bioproducidas, utilizando células de las propias pacientes, que a los 8 años de ser trasplantadas mostraron una estructura normal y una adecuada función sexual, por lo que los autores piensan que esta técnica puede ser útil para pacientes que requieran una reconstrucción vaginal.

4.4. Uretra

Alteraciones importantes de la uretra pueden darse como consecuencia de traumatismos, distintas enfermedades y defectos congénitos. Su tratamiento es limitado.

Ahora un equipo de investigación de las universidades "Wake Forest" y Nacional de México, dirigido por Anthony Atala, experto en medicina regenerativa, ha conseguido producir uretras bioartificiales, que trasplantadas a cinco niños con lesiones uretrales consiguen revertirlas[67].

Las uretras se produjeron utilizando células musculares y epiteliales de biopsias de vejiga de los propios niños. Tras cultivar y expandir las células, se trasfirieron a una matriz de ácido poliglicólico. A los siete días se había conseguido la formación de estructuras tubulares de uretra.

Los trasplantes se realizaron entre marzo de 2004 y julio de 2007 y el seguimiento se completó en julio de 2010. La edad media de los niños incluidos en el estudio fue de 10 a 14 años. El tiempo medio de seguimiento fue de 71 meses (rango 36-76 meses).

Para comprobar la formación de tejido uretral se valoraron los niveles de AE1/AE3, α-actina, desmina y anticuerpos antimiosina, lo que confirió la presencia de células epiteliales y musculares. Funcionalmente se pudo comprobar que el flujo urinario medio era de 27.1mL/s. Morfológicamente, por estudios radiográficos y endoscópicos, se comprobó que la uretra neoformada tenía calibres uretrales normales. Además, tras practicar las correspondientes biopsias uretrales, se observó que a los 3 meses de la implantación la estructura del tejido uretral era normal.

Según Anthony Atala, este «es un ejemplo de cómo los métodos de regeneración de tejidos pueden aplicarse a múltiples órganos», en este caso a la uretra infantil.

4.5. Tráquea

Como ya se ha comentado anteriormente un paso fundamental en el uso de órganos bioproducidos es determinar si se podrán utilizar en la clínica humana. En relación con ello, el órgano en el que existe mayor experiencia clínica sobre el uso de un órgano bioproducido para trasplante es la tráquea. La primera vez que se realizó un trasplante de este órgano fue en el año 2008, tras conseguir producir por bioingeniería una matriz tubular de tráquea. Para ello, los autores eliminaron el material celular y antigénico de una tráquea humana de 7 centímetros, obtenida de una mujer blanca de 51 años que había fallecido de una hemorragia cerebral. En primer lugar se le eliminó el tejido conectivo, y posteriormente la tráquea fue descelularizada utilizando una solución detergente durante seis semanas y 25 ciclos de lavado. De esta forma se obtuvo la correspondiente matriz descelularizada. Posteriormente ésta fue recelularizada con células troncales epiteliales y condrocitos derivados de células troncales mesenquimales obtenidos de la propia paciente. La tráquea así bioproducida quedó dispuesta para reemplazar a la tráquea lesionada[68].

66 Raya-Rivera AM, Esquiliano D, Fierro-Pastrana R, López-Bayghen E, Valencia P, Ordorica-Flores R, et al. Tissue-engineered autologous vaginal organs in patients: a pilot cohort study. The Lancet. 2014; 384: p. 329-336.

67 Raya-Rivera A, Esquiliano DR, Yoo JJ, Lopez-Bayghen E, Soker S, Atala A. Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study. Lancet. 2011; 377: p. 1175-82.

68 Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, E RL, Cogan TA, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. The Lancet. 2008; 372: p. 2023 - 2030.

La paciente, era una mujer de 30 años, que mostraba un cuadro de disfonía y tos debido a una infiltración tuberculosa en su tráquea, que redujo su luz.

En marzo de 2008 la paciente fue hospitalizada con disnea severa que incluso le imposibilitaba realizar los más elementales trabajos domésticos, lo que determinó que se decidiera recomendar el trasplante[69]. Tras el mismo, la paciente recuperó su capacidad respiratoria normal y mejoró su calidad de vida, mejoría que se mantuvo hasta 4 meses después de la intervención. Según comenta Jeremy Laurance[70], tras el trasplante pudo bailar con normalidad, como expresión de su recuperación física, como así lo hizo en un reciente viaje a Ibiza desde su casa en Barcelona. La paciente no desarrolló anticuerpos y no requirió fármacos inmunosupresores.

Los resultados de este trabajo muestran que se puede producir una tráquea artificial por bioingeniería, con propiedades funcionales y mecánicas similares a los de una tráquea normal.

Según los autores, su trabajo sugiere que utilizando células autólogas para recelularizar matrices apropiadas, se puede conseguir un tratamiento eficaz para pacientes con trastornos degenerativos de algún órgano y en este caso de la tráquea.

El segundo caso de trasplante de tráquea bioproducida se publicó en 2010, utilizándose la misma técnica para producir la tráquea bioartificial que en el caso anterior. Se trataba de un niño británico de 10 años, que nació con una estenosis congénita de dicho órgano, que tenía una luz traqueal de alrededor de 1 mm, lo que le dificultaba la respiración sin ayuda externa. Durante sus primeros 10 años de vida fue sometido a diversas intervenciones quirúrgicas sin resultado positivo, por lo que se pensó que podía ser un candidato idóneo para el trasplante de tráquea.

Para la producción de la tráquea se utilizó la de un adulto fallecido en Italia, que fue descelularizada utilizando un detergente, hasta obtener una matriz extracelular que fue recelularizada con células troncales de médula ósea de costilla del propio paciente 53. Tras el trasplante el niño mostró una mejoría estable, que se mantenía a los dos años de realizado el trasplante[71].

El tercer caso fue publicado en 2011, con la particularidad de que en esta ocasión la matriz utilizada fue bioartificial, diseñada y construida por un grupo de expertos de la Universidad de Londres, que tras ser recelularizada con células troncales del propio paciente se incubó en un biorreactor específicamente diseñado para el caso por la firma comercial Harvard Bioscience. Las células añadidas a la matriz se cultivaron durante dos días antes de poder realizarse el trasplante.

Clínicamente se trataba de un varón de 36 años, que presentaba un cáncer de la parte distal de la tráquea y de los bronquios, que había sido sometido con anterioridad a tratamiento quirúrgico y radioterapia. Después de la resección completa de la tráquea ésta fue reemplazada por la producida bioartificialmente[72]. Tras el trasplante no se produjeron complicaciones importantes y el paciente se mostró asintomático y sin recidiva tumoral a los cinco meses después de la intervención[73].

Un aspecto fundamental para determinar la utilidad clínica de este tipo de trasplantes es seguir su evolución a más largo plazo, lo que se ha realizado en un reciente trabajo, en el que se evalúa el resultado clínico del primer trasplante de tráquea a los cinco años de practicado. El control de la paciente se realizó cada tres meses y cada 6 se obtuvo muestra traqueal para un estudio anatopatológico, inmunoquímico y de microscopia electrónica. Así mismo se evaluó su calidad de vida[74].

69 Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, E RL, Cogan TA, et al, op. cit. 68

70 Laurance J. British boy receives trachea transplant built with his own stem cells. BMJ. 2010; 340: p. 672.

71 Elliott MJ, De Coppi P, Speggiorin S, Roebuck D, Butler CR, Samuel E, et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. Lancet. 2013; 380: p. 994-1000.

72 Jungebluth P, Alici E, Baiguera S, Le Blanc K, Blomberg P, Bozóky B, et al. Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof-of-concept study. The Lancet. 2011; 378: p. 1997-2004.

73 First successful transplantation of a synthetic tissue engineered windpipe. Department of Communication Karolinska University Hospital. 2011 Jul 08.

74 Gonfiotti A, Jaus MA, Barale D, Baiguera S, Comin C, Lavorini F, et al. The first tissue-engineered airway transplantation: 5-year follow-up results. The Lancet. 2014; 383: p. 238-244.

Sin embargo, a pesar de estos favorables datos a los 12 meses del trasplante se pudo comprobar la existencia de tejido cicatricial en la tráquea nativa próxima a la zona del implante, lo que requirió la implantación de un sten biodegradable. Con independencia de ello, el implante bioartificial no mostraba anomalías anatómicas, estaba bien vascularizado y adecuadamente recelularizado con epitelio respiratorio y cilios funcionantes.

Una preocupación adicional era saber si las células autólogas trasplantadas pudieran producir tumores, lo que fue descartado tras una cuidadosa evaluación de la paciente. Por otro lado, la función pulmonar era normal y la tos refleja había desaparecido, mostrando la enferma una vida social y laboral normal.

Macchiarino, que ahora trabaja en el Instituto Karolinska de Estocolmo, ha manifestado recientemente que ha tratado 8 pacientes más con tráqueas bioartificiales producidas por la técnica habitual, tres de ellos niños. Además en otros 6 pacientes en los que ha utilizado una técnica diferente, pues ha usado una matriz sintética, construida con biopolímeros, que remedaba la estructura de una matriz natural de cartílago. Es decir, después de los tres primeros trasplantes aquí resumidos se han realizado 14 más, aunque de ninguno de ellos existen datos publicados[75].

5. Reflexión final sobre la producción de tejidos y órganos bioartificiales

No cabe duda que la producción de tejidos y órganos bioartificiales, como ya se ha comentado ampliamente, es una esperanzadora posibilidad para la medicina regenerativa y reparadora de este siglo XXI. Sin embargo, a nuestro juicio, su posible utilización clínica merece una ulterior reflexión médica y ética.

Una aproximación para valorar la utilidad del uso clínico de órganos bioartificiales, se puede llevar a cabo tomando como referencia el trasplante de tráquea, que es sobre el que existen más datos, especialmente tras la publicación del artículo de Gonfiotti y col[76] en el que se analizan los resultados del primer trasplante de una tráquea bioartificial al cabo de cinco años de realizado.

Un primer aspecto a valorar al realizar un juicio ético es la opinión de los propios pacientes trasplantados. En relación con ello, parece de interés referir lo que la paciente comentaba a los cinco años de realizarse el trasplante, mostrándose satisfecha del mismo, ya que la calidad de su vida había mejorado sustancialmente, pues solamente el 2% de los días, durante estos cinco años, estuvo hospitalizada[77], una opinión a tener en cuenta al valorar la eticidad de estas prácticas médicas, especialmente en lo que hace referencia a riesgos/beneficios.

Sin embargo, al margen de esta opinión subjetiva, el trasplante de tráquea bioartificial, a la luz de lo hasta ahora conocido, muestra incertidumbres, que pueden extenderse a la utilización de cualquier otro tipo de órganos bioartificiales.

La primera circunstancia que hay que tener en consideración es que en la gran mayoría de los casos el trasplante ha sido prescrito por "uso compasivo", que, como se sabe, permite utilizar técnicas médicas no bien valoradas, en pacientes muy graves, y en los que las terapias convencionales no han dado resultados satisfactorios. Ello hace que los resultados sean más difíciles de evaluar que cuando se utilizan ensayos clínicos programados.

Pero aun surgen más dudas si se tiene en cuenta, como se comenta en un editorial de Science, que al menos 4 pacientes a los que se les ha trasplantado una tráquea bioproducida han fallecido en circunstancias que pueden ser directamente relacionadas con el propio trasplante. Entre ellos, un niño y un adulto están bien documentados, otros dos no lo están tanto. Uno de estos últimos es un niño que sufrió una hemorragia torácica masiva justo después de insertarle la tráquea bioproducida. El otro fue un paciente de Baltimore que murió el 5 de marzo de 2012 después de recibir la matriz sintética recelularizada con sus propias células troncales, en Estocolmo, en noviembre de 2012[78].

75 Vogel G. Trachea Transplants Test the Limits. Science. 2013; 340: p. 266-268.

76 Gonfiotti A, Jaus MA, Barale D, Baiguera S, Comin C, Lavorini F, et al, op. cit. 74.

77 Russell AJ. The end of the beginning for tissue engineering. Lancet. 2014; 383: p. 193 - 195.

78 Vogel G, op. cit. 75

Otro aspecto que hay que considerar, es que se están llevando a la práctica clínica tecnologías muy innovadoras, pero de las que no se conocen bien los mecanismos por los que actúan. Es decir, se han empezado a utilizar estos trasplantes sin haberse realizado los requeridos ensayos clínicos previos, sin conocer en profundidad si muestran o no efectos secundarios, sin haber determinado su evolución a largo plazo, sin una adecuada valoración de riesgobeneficio y sobre todo sin la requerida y exhaustiva experimentación animal previa, aunque Birchall y Macchiarini habían previamente evaluado el trasplante de tráqueas en cerdos, pero sin que los resultados de estas experiencias fueran publicados, aunque al parecer los animales vivían normalmente a los 60 días del trasplante[79].

Sin embargo, algunas de estas incógnitas podrían esclarecerse cuando finalicen varios ensayos clínicos que actualmente se están iniciando[80]. Así, en marzo pasado, Birchall, entonces en la Universidad de Bristol y ahora en la de Londres, recibió 4,3 millones de dólares del Consejo de Educación Médica del Reino Unido, para poner en marcha un ensayo clínico utilizando tráqueas y laringes bioproducidas, en el cual se pretende incluir 10 pacientes. También Macchiarini ha completado ya 2 trasplantes en Rusia, como parte de un ensayo clínico financiado con 6 millones de dólares por el Gobierno de ese país, que eventualmente podría incluir a 20 o 25 pacientes. Igualmente Macchiarini va a iniciar otro ensayo clínico, subvencionado con 4 millones de euros, por parte de la Unión Europea.

No cabe duda que cuando finalicen estos tres ensayos clínicos se estará en mejores condiciones para evaluar éticamente la bondad o no del trasplante de tráqueas bioproducidas, y por analogía de otros órganos, así mismo también biogenerados.

Un aspecto importante a tener en consideración en relación a estos órganos bioproducidos, es que casi todos están desarrollados sobre matrices biológicas o sintéticas, y no se conoce bien en qué medida dichas matrices serán estables con el trascurso del tiempo y cómo se irán adecuando al desarrollo morfológico del órgano corporal que las sustenta.

Como consecuencia de todo lo anteriormente referido, y de acuerdo con Delaere y van Raemdouck[81], la justificación ética del trasplante de tráqueas bioproducidas en humanos es sin duda cuestionable, pues no existen todavía datos que garanticen resultados favorables. Lo mismo se podría afirmar del resto de órganos bioproducidos utilizados en la clínica humana.

En resumen, nos parece que son muchos los interrogantes médicos y éticos que todavía se plantean en relación con los trasplantes de órganos bioproducidos, pero también son muchas las esperanzas; pero lo que sí parece asumible es que el uso de órganos bioartificiales es un camino terapéutico que hay que ir recorriendo, aun sin saber con certeza a donde nos conducirá, pero que sin duda parece mejor andarlo que permanecer parados.

Agradecimientos

Agradecernos a Ester Bosch Alamar su contribución en la transcripción del trabajo y en la ordenación bibliográfica del mismo.

79 Ibid., 75
80 Ibid., 75

81 Delaere PR, Van Raemdonck D. The trachea: the first tissue-engineered organ? J Thorac Cardiovasc Surg. 2014; 147: p. 1128-32.