

# Estudio de las interacciones entre un andamio de colágena tipo I (Nukbone) y líneas celulares involucradas en la fibrosis y la regeneración

Dra. Carolina Guzmán  
Laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM),  
Unidad de Medicina Experimental,  
Hospital General de México

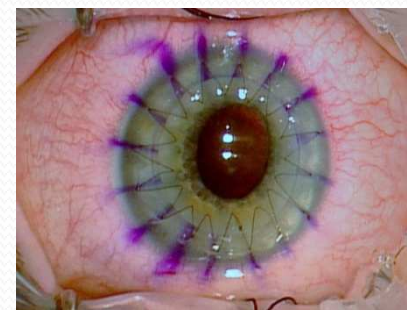
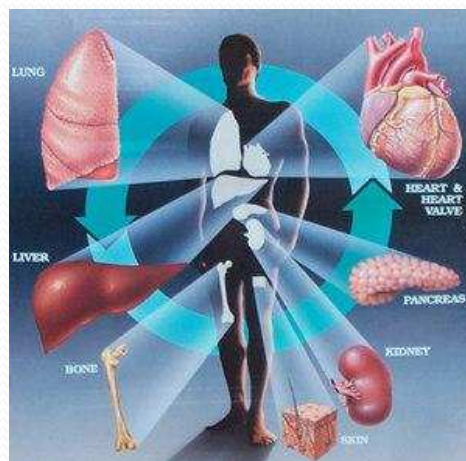
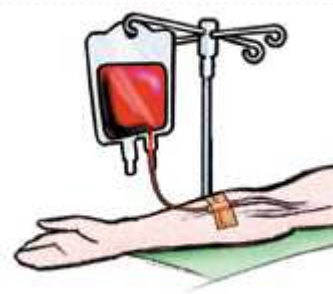


# Un reto para la biomedicina...

- mantener ...
- mejorar ...
- restaurar ...

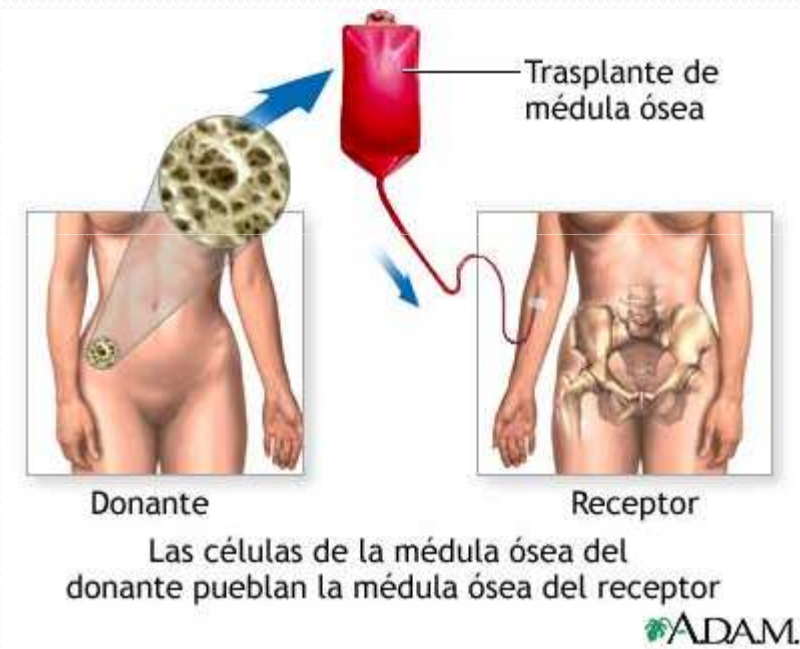
... la función biológica de un órgano o tejido dañado

# Injertos





# Trasplante de células



# Desventajas

- Incompatibilidad
- Reacción Injerto vs. Hospedero
- Tx Inmunosupresión
- Inoculación de patógenos
- Costos
- Lista de espera
- Disponibilidad de tejidos
- Etc.

# Uso de materiales





# Andamios

- Los tejidos requieren un arreglo tridimensional que favorece el microambiente permitiendo el crecimiento celular y su función.
- Un andamio es la estructura que permite este arreglo tridimensional





# Los andamios pueden

- permitir la adhesión celular
- liberar o retener células y factores de crecimiento
- tener influencia mecánica y biológica en las células



# Requerimientos

- Porosidad y tamaño de poro adecuados
- Biodegradables
- Reabsorbible
- No inmunogénicos
- No tóxicos

# Materiales de andamio

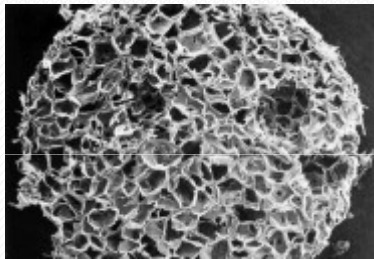
- Polímeros:
  - PLA (ácido láctico), PGA (ácido glicólico)
- Derivados de matriz extracelular:
  - Colágena, fibrina
- Tejido descelularizado



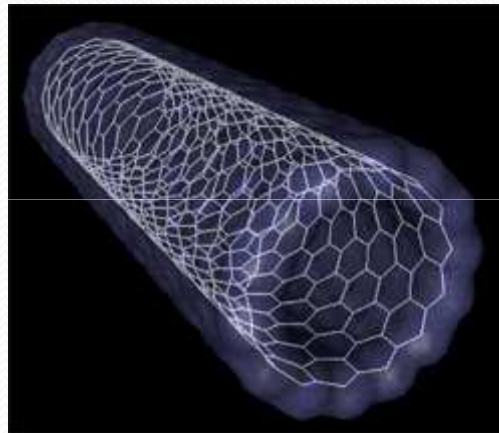
# Limitaciones

- Una vez implantados requieren vascularización
- Pueden requerir ser cultivados previo al implante
- Pueden requerir factores de crecimiento, hormonas y otros metabolitos

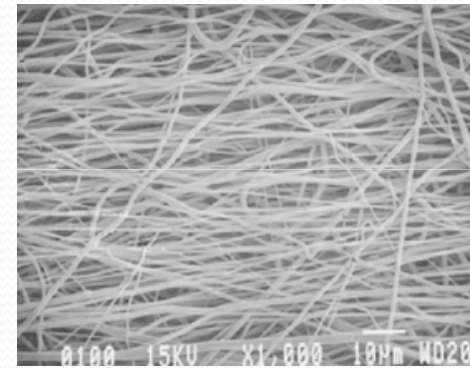
# Andamios



PLA

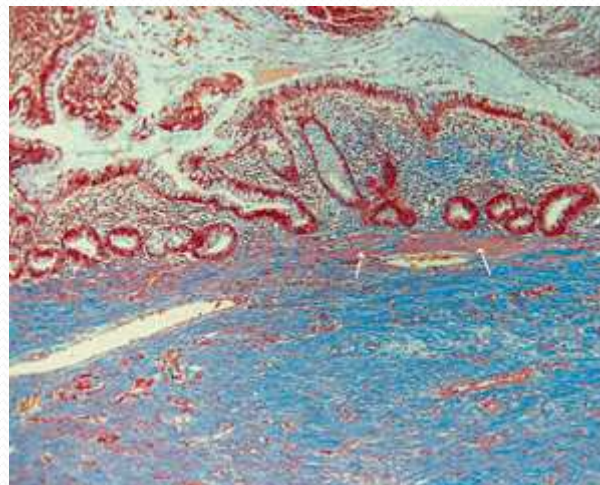
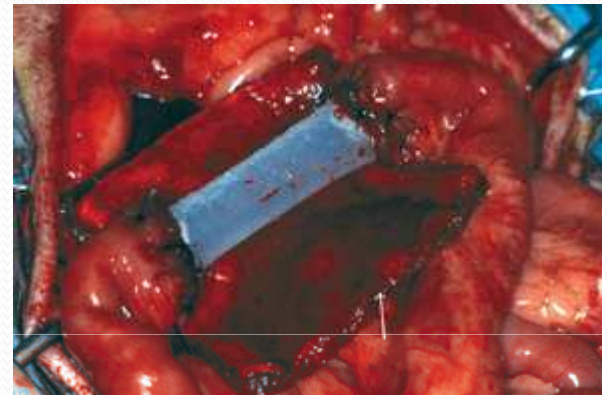


Nanotubos de carbono

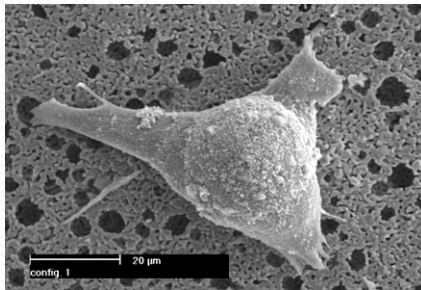
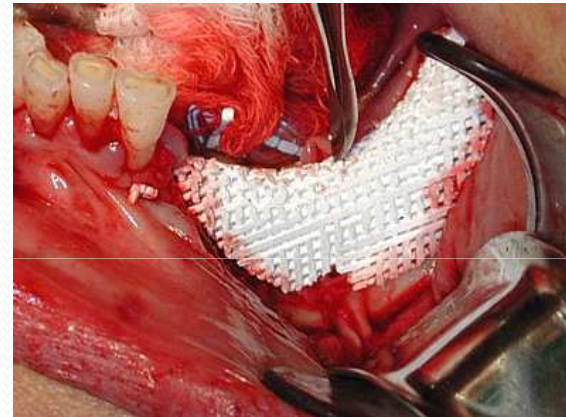
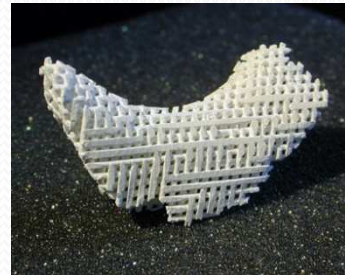


PGA

# Regeneración de intestino



# Regeneración de hueso



# Nukbone



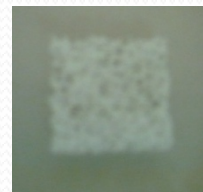


# Nukbone y regeneración de hueso

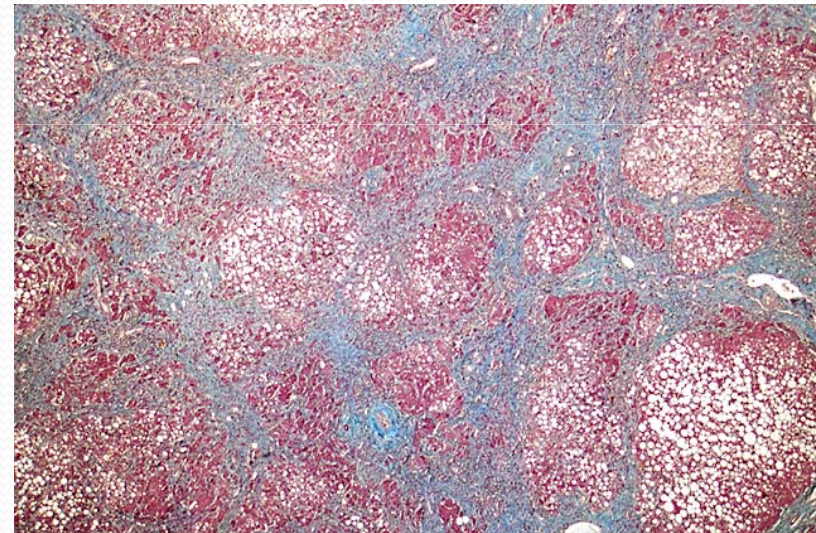
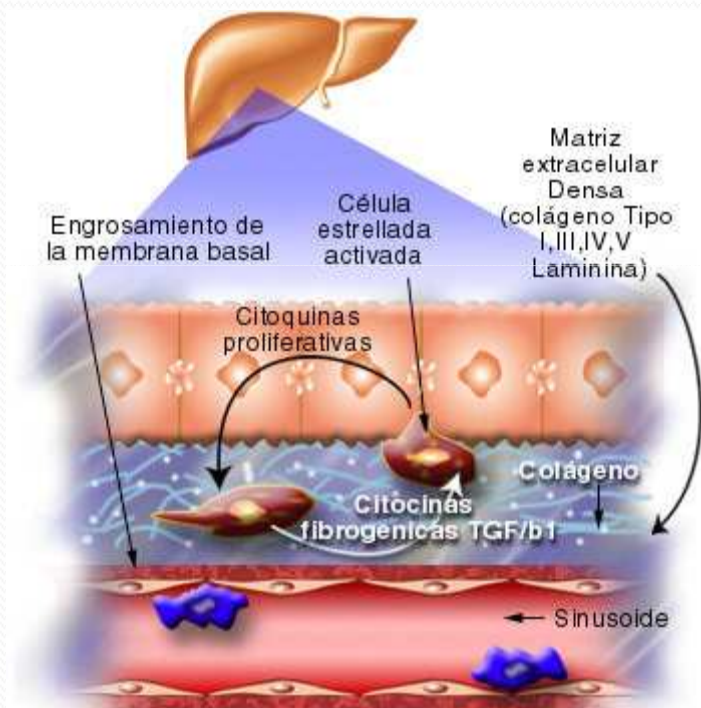
- 52 pacientes, 28 masculinos y 24 femeninos (47.7 años, 9 a 84 años)
- 28 se les practicó artrodesis, 16 fueron tratados por pseudoartrosis, 3 presentaron tumores óseos benignos y 5 defectos óseos,
- se les colocó el xenoimplante.
- se presentó consolidación ósea entre los tres y ocho meses después de la cirugía;
- el xenoimplante se integró totalmente en un periodo de tres a 18 meses dependiendo del tamaño de la patología y la región donde fue colocado.

# Andamio de colágena de Nukbone

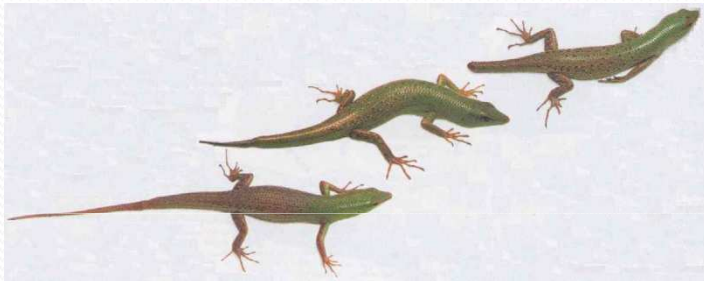
- Esponjas de colágena tipo I proveniente de hueso de bovino con aplicaciones médicas especialmente en la sustitución de hueso y reparación de piel.



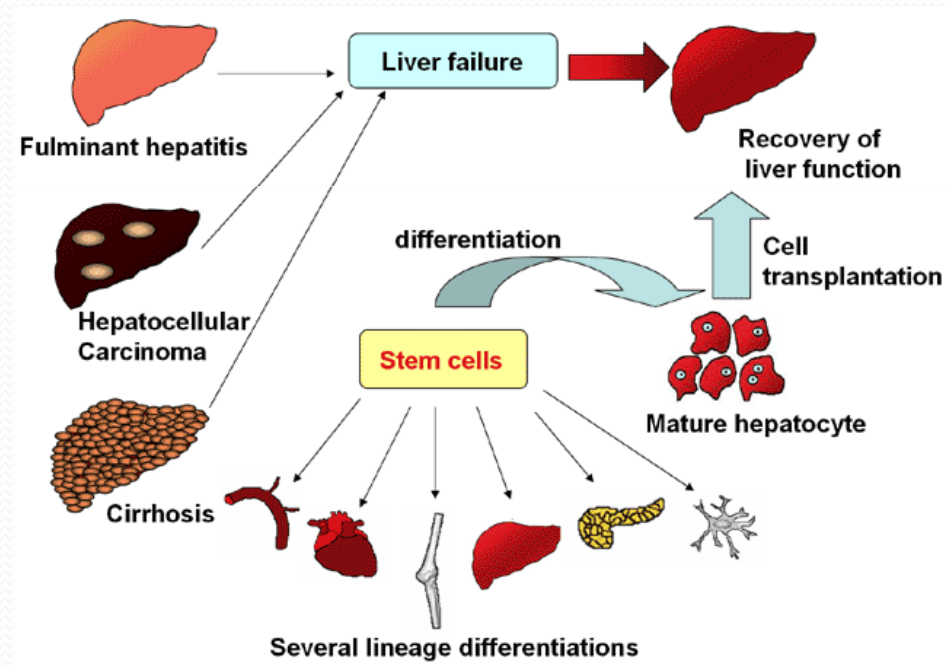
# Fibrosis



# Regeneración



# Regeneración



# Hipótesis

- Diferentes líneas celulares involucradas en la fibrosis, tales como los miofibroblastos y en regeneración, células parenquimatosas, son capaces de crecer en contacto con moléculas de la matriz extracelular como la colágena, por lo tanto crecerán y colonizarán la colágena del material de andamio Nukbone, tanto en cultivo como *in vivo*.
- El uso de la colágena obtenida de Nukbone como xenoimplante enriquecido con células del propio paciente favorecerá la regeneración del tejido implantado (hígado y uretra) permitiendo la recuperación estructural y funcional del tejido.

# Objetivos

# Objetivo general

- Identificar las interacciones que se presentan entre la colágena tipo I obtenida del material de andamio Nukbone y diferentes líneas celulares involucradas en la fibrosis (células estelares, fibroblastos, hepatocitos y células de urotelio) y regeneración tanto *in vitro* como en modelos *in vivo*.



# Objetivos particulares

- In vitro:
  - Identificar las interacciones entre líneas celulares involucradas en el proceso fibrótico (HepG-2: hepatocitos, LX-2: células estelares, HT1080: fibroblastos, Hs 769.T: células de urotelio) y la colágena tipo I obtenida del material de andamio Nukbone.
  - Estudiar a nivel estructural y molecular la presencia o ausencia de alteraciones en las líneas celulares cultivadas con la colágena tipo I obtenida del material de andamio Nukbone.
  - Determinar los índices de proliferación, apoptosis y necrosis de las células HepG-2, LX-2, HT1080 y Hs 769.T en cultivos con el material de andamio.

# Objetivos particulares

- In vivo:
  - Realizar implantes de la colágena tipo I obtenida del material de andamio Nukbone en el hígado de ratas control y con diferentes estadios de fibrosis hepática para identificar las interacciones entre las células del hígado sano y el hígado fibrótico con el material de andamio.
  - Determinar los índices de proliferación, apoptosis y necrosis de las células del hígado sano y fibrótico con el material de andamio a diferentes tiempos después del implante.
  - Realizar implantes de la colágena tipo I obtenida del material de andamio Nukbone en la uretra de perros sanos y con estenosis uretral para identificar las interacciones entre las células de la uretra sana y fibrótica con el material de andamio.
  - Determinar los índices de proliferación, apoptosis y necrosis de las células de la uretra sana y estenosada con el material de andamio a diferentes tiempos después del implante.

# Métodos

# Estudios *in vitro*

HepG2  
LX2

10<sup>6</sup> células



+



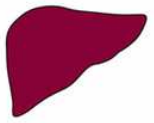
Hs 769.T  
HT1080

Histología  
Microscopía electrónica  
Proliferación (BrdU)  
Apoptosis (TUNEL)  
Expresión de genes  
(qPCR)

---

Inicialmente se realizarán cultivos individuales y posteriormente co-cultivos

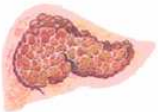
# Estudios *in vivo*: fibrósisis hepática



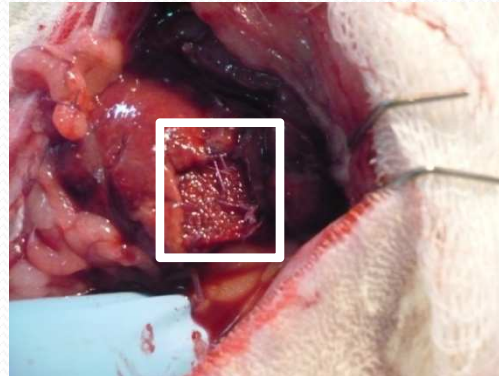
HIGADO NORMAL



HIGADO CON



CIRROSIS



Histología  
Microscopía electrónica  
Proliferación (BrdU)  
Apoptosis (TUNEL)  
Secreción de citocinas  
Expresión de genes  
(qPCR)

1 cm<sup>2</sup>;  
27.02±4.39 mg

# Estudios *in vivo*: fibrósis uretral

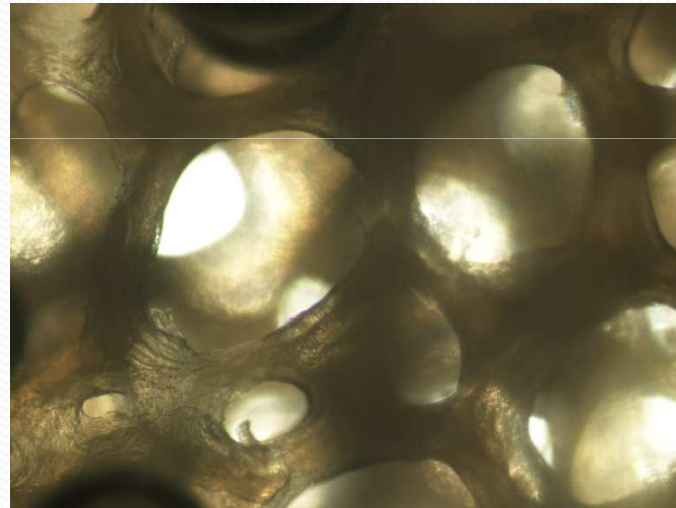
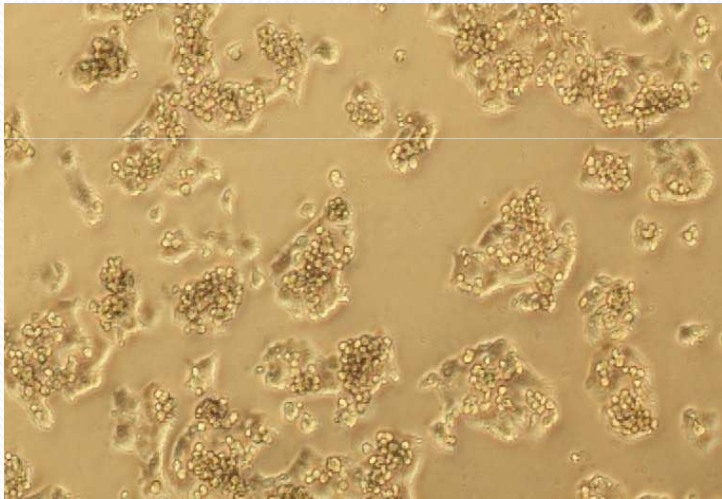


Implante  
Uretra sana  
Uretra fibrótica

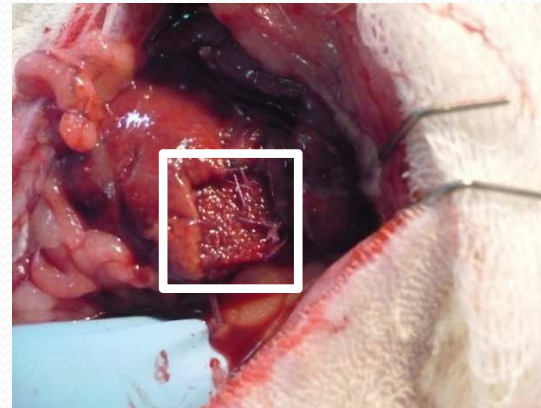


Histología  
Microscopía electrónica  
Proliferación (BrdU)  
Apoptosis (TUNEL)  
Secreción de citocinas  
Expresión de genes  
(qPCR)

# Avances...



# Avances...







# Agradecimientos

HIPAM:

Dra. Gabriela Gutierrez-Reyes

Dr. Christian Acevedo

Dr. Joselín Hernández

Dr. Galileo Escobedo

Dr. David Kershenobich



FM, UNAM

Ma. Carmen García de León

IIM, UNAM

Dra. Ma. Cristina Piña

Dr. Benjamín León



# Tipos de injertos

- Autólogos: procedentes del mismo sujeto
- Aloinjerto: de un sujeto de la misma especie
- Xenoinjerto: de un sujeto de otra especie
- Isogénico: entre gemelos idénticos

