

# TRAKEA REPLASMANI VE DOKU MÜHENDİSLİĞİNİN ROLÜ

## SURGICAL TRACHEAL REPLACEMENT AND THE ROLE OF TISSUE ENGINEERING

**Pietro Bertoglio, Andrea Viti, Alberto Terzi**

IRCCS Sacro Cuore-Don Calabria Hastanesi, Göğüs Cerrahisi Kliniği, Negrar, Verona, İtalya

**e-mail:** pieberto@hotmail.com

DOI: 10.5578/tcb.2021.012

**Çeviri: Dilvin Özkan, İsmail Cüneyt Kurul**

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

### Özet

Trakea replasmanının alternatifine ilişkin güncel araştırmalar, trakeanın kendine özgü mekanik, anatomik ve biyolojik özellikleri nedeniyle tatmin edici sonuçlar vermemiştir. Protezler (yapay ya da biyolojik), trakea olarak modellenen otojen dokular veya allogreftlerin kullanımı ile çeşitli teknikler denenmiş ve raporlanmıştır. Bu çalışmaların tutarsız uzun vadeli sonuçları, araştırmacıları doku mühendisliğine yöneltmiştir. Biyoreaktörde alıcı otolog hücreler ile ekilen kadavra donör trakea kullanılan biyolojik iskele, umut verici sonuçlarla klinik ortamda anekdotsal vakada denenmiştir. Diğer taraftan, tamamen yapay iskeleler sadece hayvan modellerinde denenmiş ve klinik kullanımları etik sorunları ortaya çıkarmıştır. Fonksiyonel trakea alternatifleri yaratmak için iskele, ekstraselüler matriks, dokular ve minimal invaziv cerrahi teknolojisindeki gelişmelerin birlikte anlaşılması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Doku mühendisliği, trakea replasmanı, cerrahi

### Abstract

To date researches on the ideal substitute for tracheal replacement have not given satisfactory results due to tracheal peculiar mechanical, anatomical and biological features. Several techniques have been tried and reported using prostheses (artificial and biological), autogenous tissues modelled as trachea or with the use of allografts. Inconsistent long-term outcomes of these studies pushed the researches on tissue engineered trachea. Biological scaffold using cadaver donor trachea seeded with recipient autologous cells in bioreactor have been tried in anecdotal case in a clinical setting with promising outcomes. On the other hand, complete artificial scaffolds were tried only on animal models and their clinical use raised ethical issues. Developments in the understanding of the relationship between scaffold, extracellular matrix and tissues together with advances in minimally invasive surgical technology are necessary for the creation of a functional tracheal substitute.

**Keywords:** Tissue engineering, tracheal replacement, surgery

### GİRİŞ

Trakeal rezeksiyon sınırının, hem malign hem de benign durumunda yetişkinlerde 6 cm ve çocuklarda toplam uzunluğun %30'unu oluşturduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (1). Dahası cerrahi öncesi radyoterapi durumunda, rezeksiyonun boyutu skar dokusu ve ikincil retraksiyona bağlı olarak maksimum 4 cm'ye ulaşabilmektedir. Daha uzun trakea segmentini içeren bir hastalık durumunda, uçtan uca anastomoz genellikle teknik olarak uygun ve güvenli değildir; bu durumda tüm trakeanın yenisi ile değiştirilmesi tüm problemi çözmektedir. Buna rağmen Belsey (2) tarafından işaret edildiği gibi trakea, herhangi bir potansiyel alterna-

tifinin kopyalanması için gereken, iyi tanımlanmış kendine has özelliklere sahiptir: Yanlarda sert, uzunlamasına esnek ve tercihen yüzeyi silli respiratuar epitel tabakasına sahip, kanal hava geçirmez, bitişik dokularla entegre olmalıdır. Ek olarak bazı yazarlar (3,4) trakea yerine kullanılacak materyalin biyouyumlu, non-immünojen, non-karsinojenik ve non-toksik olması gerektiğine işaret etmektedir. Sonuçta trakea, replasmanı daha da zorlaştıran segmental vaskülarizasyona sahiptir (5). Bunların ışığında trakea yerine kullanılacak "kutsal kase"yi bulmak için yapılan birçok girişim hayal kırıklığı ya da tatmin edici olmayan sonuçlar doğurmuştur. In vitro ve in vivo son çalışmalar, bu yineleyen ve zorlu sorunun doku mühendisliğindeki rolünü aydınlatacak gibi görünmektedir.

## TRAKEA REPLASMANI İÇİN TEKNİK VE MATERYALLER

### Protezler

İki ana tip yapay protez mevcuttur: katı ve gözenekli. Her ikisi de, özelliklerine göre birbirine bağlanabilen birkaç farklı malzemeden oluşabilmektedir (5). Protezlerin temel dezavantajları yerinden oynama, granülasyon dokusu oluşumu, müteakip skar dokusu ve enfeksiyonuna bağlı tıkanıklıktır. Dahası katı protezler, ana trakeal duvar erozyonuna ve bunun sonucunda komşu organ veya damarlara olası fistüllere neden olabilmektedir (5).

Epitel migrasyonuna ve yeni trakea dokusunun gelişmesine izin vermek için gözenekli protezler tasarlanmıştır (3). Ne yazık ki uzun segmentler açıkta ve bakteriyel enfeksiyonlara eğilimli kalırken, sadece kısa segmentlerin canlı epitelyum ile kaplandığı gösterilmiştir (6). Sonuç olarak, altında gerçek bir doku iyileşmesi olmasa da protezler hava yolu açıklığının sağlanmasında yararlı olabilmektedir ancak olumlu sonuçlar öngörülebilir değildir (5).

Üçüncü tip protezler ise biyoprotezlerdir. Deneysel klinik ortamda kullanılan en yaygın biyoprotezler aort greftidir; bu greftlerin mekanik özellikleri, hava yolu replasmanı için kabul edilebilir gibi görünse de çoğunlukla, kanalın hatrı sayılır deformasyonu ile greft, lineer büzülme göstermektedir (5). Buna rağmen bir Fransız grubu son zamanlarda operasyonunun üzerinden en az sekiz yıl geçmiş, geniş hava yolu defekti aort grefti ile onarılmış 20 hastanın sonuçlarını gözden geçirecek daha umut verici sonuçlar bildirmiştir. Dahası yazarlar stent çıkarıldıktan sonra aort grefti içinde kıkırdak ve solunum epitelinin geliştiğini bulmuşlardır (7).

### Otojen Dokular

1950'lerden beri hayvan modelleri üzerinde yapılan deneyler ve insanlar üzerindeki klinik girişimler, tutarsız sonuçlar doğurmuştur (5,8). Teknikler, yabancı madde desteği olsun olmasın serbest flepler, kanlanmış doku flepleri ya da tüp konstrüksiyonu olan otojen elementelere dayanmaktadır. Lateral trakea segment rezeksiyonu sonrası fasya latanın serbest fleplerini kullanan ilk iki olgu, 1950 yılında Belsey tarafından yayınlanmıştır (2). Hastalardan biri altı yıldan uzun süre hayatta kalmıştır ve daha sonra ikinci kez benzer bir prosedür uygulanmıştır; hasta sonunda eve canlı olarak spontan solunumu ile geri dönmüştür.

Kıkırdak greftleri veya yabancı materyallerin eklenmesiyle kasların veya cildin vaskülarize flepleri, ya hava yolları "penceresinin" ya da çevresel rezeksiyonların onarılması için kullanılmıştır; uzak flep pozisyonu halinde mikrovasküler anastomoz gerekli olabilmektedir (5). Serbest fleplere kıyasla, vaskülarize fleplerin nekrotize olmaya daha az eğilimli

olması bir avantajdır. Benzer şekilde sert materyal (kıkırdak veya yabancı madde) desteği ile kutanöz tüpler geliştirilmiştir ve daha sonra alıcıya implante edilmiştir (9). Son zamanlarda, Fabre ve meslektaşları, kaburga kıkırdak kullanımıyla şekillendirilen önkolun serbest otojen flep olarak kullanımını tarif etmişlerdir (10). Yazarlar, sekiz yıllık bir süre boyunca 12 vakayı uzun vadede sonuç açısından umut verici olarak tanımlamışlardır fakat respiratuar siliyer epitelin yokluğunu, bronştan mukus temizlenmesini zorlaştıran asil engel olarak kabul etmişlerdir. Yazarlar bu tekniğin ameliyat öncesi pulmoner fonksiyonu iyi olan hastalara uygun olduğuna karar vermişlerdir. Son olarak, bazıları özofagus ve ince bağırsak kullanımını önermektedir (10,11) fakat bu intraoperatif ve postoperatif morbiditeyi önemli ölçüde arttırabilmektedir.

### Trakea Nakli

Trakea nakli nesiller boyunca göğüs cerrahlarını heyecanlandırırsa da şimdiye kadar uzun dönem tatmin edici sonuçlara ulaşamamıştır (5,8). Çözülmesi gereken ilk konu, uzun süreli immünsupresif tedavi ile ilgili olup bu da trakea maligniteleri olan hastaları teorik olarak dışlamaktadır. Dahası greftin vaskülarizasyonu olası sonuçlarda büyük bir öneme sahip olmuştur (5,8). İşin doğrusu, taze veya korunmuş devaskülarize otogreft ve allogreftler, hayvan modellerinde sürekli bir başarısızlık göstermiştir; sadece kısa segmentler nekroz olmadan direnmiştir ancak skar dokusuna dönüşmüştür (13,14). İnsanlarda kadavra trakea grefti ile ilgili az sayıda çalışma denenmiştir. Jacobs (15) ve Propst (16)'dan iki farklı çalışma, trakeanın kıkırdak kısmının kadavradan çocuklara transplantasyonunda nispeten büyük bir deneyim olduğunu bildirmiştir. Sonuçlar iyi sağkalım oranını ve kabul edilebilir yaşam kalitesini göstermektedir. Buna rağmen tüm hastalarda işlemi takiben stent uygulanmıştır ve dekanülasyon oranı %60'tır.

Önceden de belirtildiği gibi trakea vaskülarizasyonu küçük damarlara dayanır ve genellikle segmentaldir; bu yüzden de greftin revaskülarizasyonu zordur. Serbest trakeal greft için ortalama omentopeksi ile indirek revaskülarizasyonun ümit veren sonuçları olsa da uzun segmentler dahil olduğunda santral kısım genellikle iskemiden etkilenmektedir (17,18). İnsanlarda vaka bildirimleri tatmin edici olmayan sonuçlar vermektedir (19-21). Daha yakın zamanlarda, Delaere ve arkadaşları (22) alıcının önkoluna allogreftin implantasyonu ve implantasyondan sonra immünsupresif tedavinin tedrici olarak çekilmesi ile benzer bir protokol bildirmektedirler. Dondurarak saklanmış allogreftler, taze olanlara göre akut rejeksiyonda ve erken revaskülarizasyonda belirgin bir azalma sağlayarak allojenisiteyi azaltmaktadır; hatta engelliyor gibi görünmektedir.

Son olarak hayvan modellerinde doğrudan revaskülarizasyon, iyi sonuç verdiği gösterilerek birkaç yazar tarafından denenmiştir. Klinik bir ortamda, Strome ve arkadaşları, canlı larinks greftinin beş trakeal halkasının, tiroid ve paratiroid ile arteriyel, venöz ve nöral anastomozlar yaparak "en bloc" kullanımını bildirmişlerdir. 40 ay sonra hastanın iyi durumda olduğu, yutma ve vokal kord hareketini yeniden kazandığı bildirilmiştir (23).

### **DOKU MÜHENDİSLİĞİ İLE TRAKEA**

Mevcut senaryoda tutarsız ve anektodsalsal iyi uzun vadeli sonuçlarla, biyomühendislik olası bir çözüm kaynağı gibi görünmektedir. Biyomühendislik ile trakea oluşturmak için farklı yaklaşımlar mümkündür. Trakea, kadavradan alınan biyoprotez bir trakea olabileceği gibi biyomühendislik ile üretilmiş iskelelerin kullanımıyla tamamen yapay olabilmektedir (5).

### **İskele ve Ekstraselüler Matriks**

İskelenin mekanik ve biyolojik özellikleriyle ilgili en zorlayıcı konular, iskelenin bir taraftan trakeanın tüm doğal özelliklerini yansıtması gerektiği; diğer taraftan doğal epitelin yeniden büyümesine ve yenilenmesine izin vermesi gerektiğidir. Dahası toksik katabolitlerin olmadığı, programlanmış ve kontrol edilebilir bir oranda hiç veya sadece minimal immünojenik, biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir olmalıdır (24,25). İskelenin üstünlüğü büyük ölçüde ekstraselüler matrikse dayanmaktadır. Ekstraselüler matriks, hücre büyümesi için hücrel farklılaşma ve doku oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir; hücre göçünü, hücre tamiri ve hücre çoğalmasını modüle etmektedir (26,27). Bu açıdan, tüm iskeleler konakçı hücrelerin içe doğru büyümesine izin verecek şekilde yüksek oranda biyouyumlu olmalıdır.

Tamamı yapay iskeleler, nanokompozit kullanarak ve 3D yazıcıların yardımıyla inşa edilmiştir. Biyolojik olarak bozunabilir çeşitli sentetik materyallerden -poliglolikolik asit (PGA), polilaktik asit/poliglolikolik asit (PLA/PGA), poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), polyester üretan, polikaprolakton (PCL) gibi- temel almışlardır. Bütün yapay iskelelerin genellikle iki avantajı vardır: Her zaman mevcut olmayan kadavra organlarına ihtiyaç duymazlar ve hastaların özelliklerine tam olarak uyulanabilirler. Çalışmaların çoğu in vitro deneylerde veya hayvan modellerinde umut verici sonuçlar belirtmektedir (28,30); buna rağmen ne yazık ki günümüze dek fonksiyonel çok katmanlı trakea rekonstrüksiyonu hala mümkün görünmemektedir. Dahası klinik kullanım, umut verici ancak tutarsız deneysel sonuçlar ve ortaya atılan etik ve bilimsel konulardan dolayı sınırlı kalmıştır (31).

Tamamı yapay iskelet ile karşılaştırıldığında, hücreden arındırılmış biyoprotezler doku rejenerasyonunu kolaylaş-

tırarak doğal ekstraselüler matriksi korumaktadır (32). Bu sebeple allogreft veya ksenogreft biyoprotezler üzerinde şu anda yoğun olarak çalışılmaktadır. Trakea biyoprotezleri söz konusu olduğunda tam olarak hücreleştirme olayı zaten zordur; özellikle kıkırdak içeren kısımlar greft reddi nedeni olabilmektedir (33). Hücreleştirme prosedürün ilk kritik adımı olarak görülmüştür çünkü ekstraselüler matriks tehlikeye atılmadan tüm organ hücreleştirilmelidir. Aslında, ilk olarak hücreleştirme işleminden sonra trakea mekanik özelliklerinde belirgin değişikliklerin görülmediği bildirilmiştir (34,35). Sonuçta, biyoprotezik iskelelerin %30'unun in vivo modellerde öngörülemez bir şekilde çökme eğiliminde olduğu bildirilmiştir (36,37). İlginç bir şekilde, karmaşık biyolojik implantları desteklemek için biyolojik vaskülarize matrisler gerçekleştirilmiştir. Yine de bugüne kadar en yaygın kullanılanları alan rekonstrüktif cerrahi olmakla birlikte trakeal rekonstrüksiyondaki rolleri sınırlıdır (24).

### **Doku Bileşenleri**

Ekstraselüler matriks ve iskele dışında trakea gibi kompleks organlar, kendi işlevini yerine getirmek için birlikte organize edilmesi gereken farklı dokuların karışımını gerektirir. Doku mühendisliği ile üretilen trakea çerçevesinde kıkırdak, solunum epiteli, yumuşak kas lifleri ve damarsal yapılar; kendi yerlerini alacak şekilde yapılandırılmalıdır (24). Ne yazık ki günümüzde trakea gibi kompleks organları oluşturmak için hücre davranışlarını yönlendirmek hala mümkün değildir (8). Örneğin; kondrositler, 3D modelde dediferansiyasyon eğilimi göstermektedirler ve biyoyapay deneysel kıkırdaklar uzun süre dayanmamaktadırlar (24). Kıkırdak, trakeanın omurgasıdır ve biyomühendislik yapısı, gelecekteki gelişmeler için önemli bir noktadır (38).

Önceden de belirtildiği gibi solunum epiteli, değiştirilmiş trakeada önemli bir elementtir çünkü enfeksiyonları önleme ve akciğer sekresyonunu temizlemede yardımcıdır. Epitelial implantlar Macchiarini ve arkadaşları tarafından başarı ile yapılmıştır ancak bu sadece kısa trakeal segmentler için geçerlidir (39).

### **Deneysel ve Klinik Deneyimler**

Biyomühendislik ürünü trakea hayvan modellerinde test edilmiştir; klinik kullanımları ise anektodsalsal verilere dayanmaktadır (28-30). 2008'de Macchiarini ilk kez biyomühendislik ürünü trakea segmentini sol ana bronkus olarak transplante etmiştir (40). Tekniği birkaç hücreleştirme döngüsünden geçen kadavra allogreftine dayanmaktadır. Sonrasında biyoprotezler, yeni organı oluşturmak için hem alıcı burun mukozası hücrelerini hem de hava içeren sıvı kültürün bulunduğu spesifik bir biyoreaktöre yerleştirilmiştir. Biyomühendislik ile elde edilen organ daha sonra transplante

edilmiştir ve birkaç gün sonra vaskülarizasyon gösterilmiştir. Beş yıl sonra, doğal trakea ve biyomühendislik sonucu oluşan transplant arasındaki proksimal anastomoz, tekrarlayan stent prosedürü gerektiren yeni stenoz gelişmiş olsa bile hasta kabul edilebilir klinik durumdadır (41). Aynı yazarlar, benzer teknik ve biyoreaktör kullanarak tamamen yapay bir biyomühendislik ürünü trakea üzerinde daha fazla klinik deneyim peşinde koşmaktadırlar ama araştırma etik ve bilimsel konulara takılmıştır (31).

Eş zamanlı olarak konjenital hava yolu defekti olan iki pediatrik hastaya trakea transplantasyonu yapılmıştır (37,42,43). Yazarlar, kadavradan alınan trakeayı iskele olarak kullanmışlardır ve sonrasında greftte ekilmiş olan mononükleer hücreleri hastanın kemik iliğinden izole etmişlerdir. Dahası greftin trakeal halkalarına doku transforme edici büyüme faktörü beta enjekte edilmiştir ve trakea, insan rekombinant eritropoietin ve granülosit koloni uyarıcı faktörüne batırılmıştır. Hastalar transplant sonrası birçok stentleme işlemine maruz kalsa da yazarlar, dört yıl sonra greft üzerinde siliyer epitel varlığını bildirmiştir.

### GELECEKTEKİ GÖRÜŞ

Biyolojik materyaller üzerinde yapılan araştırmalar yorulmaksızın gelişme göstermektedir. Uygun bir trakeal doku alternatifini için çözüm yolu hala uzundur ancak istikamet doğru görünmektedir. Aynı zamanda minimal invaziv cerrahi ve daha hassas cerrahi aletler kullanımı, daha doğru ve detaylı cerrahi müdahalelere izin vermektedir. Biyoteknik araştırmaların ve cerrahinin ortak çabası, hastaya özel çözümler ile kısa zamanda klinik sonuçlara yol açabilmektedir.

### SONUÇ

Bugüne kadar trakeal replasman; anatomik, fizyolojik ve biyolojik özellikleri nedeniyle göğüs cerrahları için bir kimera dır (yunan mitolojisinde korkutucu anlamında kullanılmaktadır). Bununla birlikte, doku mühendisliğinin gelişimi mevcut tekniklerin sınırlamalarını ve gücünü açıklığa kavuşturmaya yardımcı olmuştur; biyolojik ve yapay materyalleri bir araya getirerek yeni bir bakış açısı açmıştır. Yeni gelişmeler muhtemelen yüzleşilmesi gereken yeni etik konuları açığa vura caktır. Öte yandan, fonksiyonel bir çözüm bulunana kadar bu prosedürler yüksek oranda seçilmiş hastalara ayrılmalıdır.

### KAYNAKLAR

1. Nakamura T, Ohmori K, Kanemaru S. Tissue-engineered airway and "in situ tissue engineering". *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2011;59(2):91-7.
2. Belsey R. Resection and reconstruction of the intrathoracic trachea. *Br J Surg* 1950;38(150):200-5.

3. Scherer MA, Ascherl R, Geissdörfer K, et al. Experimental bioprosthetic reconstruction of the trachea. *Arch Otorhinolaryngol* 1986;243(4):215-23.
4. Jackson TI, O'Brien EJ, Tuttle W, et al. The experimental use of homogenous tracheal transplants in the restoration of continuity of the tracheobronchial tree. *J Thorac Surg* 1950;20(4):598-612.
5. Grillo HC. Tracheal replacement: a critical review. *Ann Thorac Surg* 2002;73(6):1995-2004.
6. Grillo HC. Surgery of the trachea. *Curr Probl Surg* 1970;3-59.
7. Martinod E, Chouahnia K, Radu DM, et al. Feasibility of bioengineered tracheal and bronchial reconstruction using stented aortic matrices. *JAMA* 2018;319(21): 2212-22.
8. Udelsman B, Mathisen DJ, Ott HC. A reassessment of tracheal substitutes-a systematic review. *Ann Cardiothorac Surg* 2018;7(2):175-82.
9. Krespi YP, Biller HF, Baek SM. Tracheal reconstruction with a pleuroperioosteal flap. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1983;91(6):610-4.
10. Fabre D, Kolb F, Fadel E, et al. Successful tracheal replacement in humans using autologous tissues: an 8-year experience. *Ann Thorac Surg* 2013;96(4):1146-55.
11. Kato R, Onuki AS, Watanabe M, et al. Tracheal reconstruction by esophageal interposition: an experimental study. *Ann Thorac Surg* 1990;49(6):951-4.
12. Letang E, Sánchez-Lloret J, Gimferrer JM, et al. Experimental reconstruction of the canine trachea with a free revascularized small bowel graft. *Ann Thorac Surg* 1990;49(6):955-8.
13. Aronstam EM, Nims RM, Winn DF. Studies in segmental replacement of the thoracic trachea. *J Surg Res* 1961;1:108-10.
14. Neville WE, Bolanowski PJ, Soltanzadeh H. Homograft replacement of the trachea using immunosuppression. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976;72(4):596-601.
15. Jacobs JP, Elliott MJ, Haw MP, et al. Pediatric tracheal homograft reconstruction: a novel approach to complex tracheal stenoses in children. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112(6):1549-58; discussion 1559-60.
16. Propst EJ, Prager JD, Meizen-Derr J, et al. Pediatric tracheal reconstruction using cadaveric homograft. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2011;137(6):583-90.
17. Nakanishi R, Shirakusa T, Mitsudomi T. Maximum length of tracheal autografts in dogs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106(6):1081-7.
18. Yokomise H, Inui K, Wada H, et al. Split transplantation of the trachea: a new operative procedure for extended tracheal resection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112(2):314-8.
19. Klepetko W, Marta GM, Wissner W, et al. Heterotopic tracheal transplantation with omentum wrapping in the abdominal position preserves functional and structural integrity of a human tracheal allograft. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127(3):862-7.
20. Rose KG, Sesterhenn K, Wustrow F. Tracheal allotransplantation in man. *Lancet* 1979;1(8113):433.
21. Levashov YuN, Yablonsky PK, Cherny SM, et al. One-stage allotransplantation of thoracic segment of the trachea in a patient with idiopathic fibrosing mediastinitis and marked tracheal stenosis. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993;7(7):383-6.
22. Delaere P, Vranckx J, Verleden G, et al. Tracheal allotransplantation after withdrawal of immunosuppressive therapy. *N Engl J Med* 2010;362(2):138-45.

23. Strome M, Stein J, Esclamado R, et al. Laryngeal transplantation and 40-month follow-up. *N Engl J Med* 2001;344(22):1676-9.
24. Walles T. Bioartificial tracheal grafts: can tissue engineering keep its promise? *Expert Rev Med Devices* 2004;1(2):241-50.
25. Yi S, Ding F, Gong L, et al. Extracellular matrix scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther* 2017;12(3):233-46.
26. Abbott A. Cell culture: biology's new dimension. *Nature* 2003;424(6951):870-2.
27. Krieg T, LeRoy EC. Diseases of the extracellular matrix. *J Mol Med (Berl)* 1998;76(3-4):224-5.
28. Wu W, Feng X, Mao T, et al. Engineering of human tracheal tissue with collagen-enforced poly-lactic-glycolic acid non-woven mesh: a preliminary study in nude mice. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2007;45(4):272-8.
29. Chang JW, Park SA, Park JK, et al. Tissue-engineered tracheal reconstruction using three-dimensionally printed artificial tracheal graft: preliminary report. *Artif Organs* 2014;38(6):E95-E105.
30. Mahoney C, Conklin D, Waterman J, et al. Electrospun nanofibers of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) / depolymerized chitosan for respiratory tissue engineering applications. *J Biomater Sci Polym Ed* 2016;27(7):611-25.
31. The Lancet Editors. Retraction-Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof-of-concept study. *Lancet* 2018;392(10141):11.
32. Johnson C, Sheshadri P, Ketchum JM, et al. In vitro characterization of design and compressive properties of 3D-biofabricated/decellularized hybrid grafts for tracheal tissue engineering. *J Mech Behav Biomed Mater* 2016;59:572-85.
33. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials* 2011;32(12):3233-43.
34. Baiguera S, Jungebluth P, Burns A, et al. Tissue engineered human tracheas for in vivo implantation. *Biomaterials* 2010;31(34):8931-8.
35. Baiguera S, Birchall MA, Macchiarini P. Tissue-engineered tracheal transplantation. *Transplantation* 2010;89(5):485-91.
36. Baiguera S, Del Gaudio C, Jaus MO, et al. Long-term changes to in vitro preserved bioengineered human trachea and their implications for decellularized tissues. *Biomaterials* 2012;33(14):3662-72.
37. Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ, et al. Tissue-engineered tracheal replacement in a child: a 4-year follow-up study. *Am J Transplant* 2015;15(10):2750-7.
38. Kojima K, Vacanti CA. Tissue engineering in the trachea. *Anat Rec (Hoboken)* 2014;297(1):44-50.
39. Macchiarini P, Candelier JJ, Coullin P, et al. Use of embryonic human trachea grown in nude mice to patch-repair congenital tracheal stenosis. *Transplantation* 2000;70(11):1555-9.
40. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008;372(9655):2023-30.
41. Gonfiotti A, Jaus MO, Barale D, et al. The first tissue-engineered airway transplantation: 5-year follow-up results. *Lancet* 2014;383(9913):238-44.
42. Elliott MJ, Butler CR, Varanou-Jenkins A, et al. Tracheal replacement therapy with a stem cell-seeded graft: lessons from compassionate use application of a GMP-compliant tissue-engineered medicine. *Stem Cells Transl Med* 2017;6(6):1458-64.
43. Elliott MJ, De Coppi P, Speggorin S, et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *Lancet* 2012;380(9846):994-1000.