



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Maestría en Ciencias en Biomedicina



DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE DESCELULARIZACIÓN EN BIORREACTOR  
CON BAJA PRESIÓN PARA ÓRGANOS DENSOS, PARA LA PRODUCCIÓN DE  
MATRIZ EXTRACELULAR FUNCIONAL PARA RECELULARIZACIÓN

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias en Biomedicina

Presenta

Lic. en Enf. y Obst. Diego Armando Hernández Carrillo

Dirigido por:

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel

Querétaro, Qro. a 14 de Octubre de 2025

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina  
Maestría en Ciencias en Biomedicina



DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE DESCELULARIZACIÓN EN BIORREACTOR  
CON BAJA PRESIÓN PARA ÓRGANOS DENSOS, PARA LA PRODUCCIÓN DE  
MATRIZ EXTRACELULAR FUNCIONAL PARA RECELULARIZACIÓN

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias en Biomedicina

Presenta

Lic. en Enf. y Obst. Diego Armando Hernández Carrillo

Dirigido por:

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel  
Presidente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Alfredo Varela Echavarría  
Secretario

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Juan Carlos Solís Sáinz  
Vocal

\_\_\_\_\_  
Firma

Dr. Pablo García Solís  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Dra. Ma. Ludivina Robles Osorio  
Suplente

\_\_\_\_\_  
Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
14 de Octubre de 2025

## **DEDICATORIAS**

A mis padres, **Armando Hernández Casas** y **Graciela Carrillo Hernández**, ya que, con su guía, crianza y apoyo, me motivaron al crecimiento profesional, siendo ellos mismo mi modelo de superación personal y estándar de moralidad.

A mi esposa **Denisse Ximena Ramírez Pérez**, por su apoyo y a acompañamiento durante todo este proceso formativo siendo un gran pilar superior que con su apoyo me permitió superarme cada día más.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)**, ya que sin su financiamiento (Beca), no hubiera sido posible la realización de los estudios de posgrado, así como la experimentación.

A la **Universidad Autónoma de Querétaro**, puesto gracias al uso de sus instalaciones, aulas laboratorios, profesores, y personal auxiliar, de sus múltiples facultades, no hubiera sido posible la conclusión del programa educativo, así como la realización de los experimentos necesarios para la presente tesis.

Al **Instituto de Neurobiología la Universidad Nacional Autónoma de México**, puesto gracias al uso de sus instalaciones, laboratorios, investigadores, y personal auxiliar, no hubiera sido posible la realización de los experimentos necesarios para la presente tesis.

# ÍNDICE

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| I) INTRODUCCIÓN.....                                                                    | 1  |
| II) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....                                                     | 2  |
| IV) ANTECEDENTES .....                                                                  | 4  |
| 4.1 Sistema cardiovascular.....                                                         | 5  |
| 4.2 Matriz Extracelular (MEC). .....                                                    | 11 |
| 4.3 Ingeniería tisular y Descelularización.....                                         | 18 |
| 4.4 Biorreactores en ingeniería tisular .....                                           | 23 |
| 4.5 Radiación Ultravioleta (UV) .....                                                   | 26 |
| V) HIPÓTESIS.....                                                                       | 28 |
| VI) OBJETIVOS .....                                                                     | 28 |
| 6.1 Objetivo general .....                                                              | 28 |
| 6.2 Objetivos específicos .....                                                         | 28 |
| VII) MATERIALES Y MÉTODOS .....                                                         | 29 |
| 7.1 Diseño de estudio:.....                                                             | 29 |
| 7.2 Corazón Control (No Descelularizado) y Corazón Experimental (Descelularizado) ..... | 29 |
| 7.3 Descelularización de parches Cardiacos .....                                        | 31 |
| 7.4 Análisis de la Matriz Extracelular.....                                             | 32 |
| VIII) ASPECTOS BIOÉTICOS.....                                                           | 34 |
| 8.1 Generalidades de bioética .....                                                     | 34 |
| 8.2 Dictamen de comité de bioética institucional .....                                  | 34 |

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| IX) RESULTADOS .....                                                | 35 |
| 9.1 Diseño y creación del prototipo Multi-descelularizador-UV ..... | 35 |
| 9.2 Resultados órgano control.....                                  | 41 |
| 9.3 Resultados órgano Experimental Descelularizado.....             | 44 |
| 9.4 Resultados Parches Cardiacos Descelularizados .....             | 45 |
| 9.5 Resultados en Conteo Celular .....                              | 46 |
| 9.6 Divulgación .....                                               | 48 |
| X) DISCUSIÓN .....                                                  | 49 |
| XI) CONCLUSIONES.....                                               | 52 |
| XII) BIBLIOGRAFÍA.....                                              | 53 |
| XIII) ANEXOS .....                                                  | 59 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Anatomía del corazón. ....                                                | 6  |
| Figura 2. Anatomía superficial del corazón. ....                                    | 6  |
| Figura 3. Cardiomiocitos de la pared ventricular de un corazón de rata.....         | 8  |
| Figura 4. Diagrama de la circulación menor y mayor.....                             | 9  |
| Figura 5. Estructura en la MEC. ....                                                | 12 |
| Figura 6. Fibras de colágeno y elásticas.....                                       | 17 |
| Figura 7. Matriz extracelular.....                                                  | 18 |
| Figura 8. Descelularización de órganos .....                                        | 20 |
| Figura 9. Diseño de biorreactor de perfusión para descelularización de órganos..... | 24 |
| Figura 10. Diseño de biorreactor electromagnético. ....                             | 25 |
| Figura 11. Prototipo de Multi-descelularizador-UV .....                             | 35 |
| Figura 12. Sistema de perfusión.....                                                | 36 |
| Figura 13. Cama de descelularización. ....                                          | 37 |
| Figura 14. Diseño Cámara de descelularización. ....                                 | 38 |
| Figura 15. Fuente de luz ultravioleta (UV). ....                                    | 39 |
| Figura 16. Anexo del dispositivo. ....                                              | 40 |
| Figura 17. Corazón Control de Rata Wistar.....                                      | 41 |
| Figura 18. Tinción con HE de Corazón Control .....                                  | 43 |
| Figura 19. Tinción para fibras de colágeno en el corazón control. ....              | 43 |
| Figura 20. Time-lapse de descelularización cardíaca .....                           | 44 |
| Figura 21. Fibras de colágeno en el proceso de descelularización. ....              | 44 |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 22. Descelularización en parches cardíacos.....                                     | 45 |
| Figura 23. Fibras de colágeno en parches cardíacos descelularizados.....                   | 45 |
| Figura 24. Curva de descelularización cardíaca.....                                        | 46 |
| Figura 25. Curva de descelularización de parches cardíacos.....                            | 46 |
| Fuente 26. Comparación de la descelularización de órgano completo y parches cardíacos..... | 47 |

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Métodos para procesos de descelularización ..... 21

Tabla 2. Métrica Orgánica de Corazón Control de Rata Wistar ..... 42

## **ABREVIATURAS Y SIGLAS**

**ADN / DNA:** Ácido desoxirribonucleico

**ARN / RNA:** Ácido ribonucleico

**HE:** Hematoxilina y Eosina

**MEC:** Matriz extracelular

**SDS:** Dodecilsulfato sódico

**TM:** Tricrómica de Masson

**UV:** Radiación ultravioleta

## RESUMEN

La descelularización es el proceso por el cual se remueve por medios físicos, químicos y/o enzimáticos los componentes celulares de un tejido u órgano, dejando solamente la matriz extracelular (MEC) del tejido. Se realizó la descelularización de corazones completos de rata Wistar, empleado tripsina y lavado continuado de SDS al 2% a 37°C analizado a 1, 3, 6 y 12 horas; además, se descelularizaron parches cardíacos de rata Wistar de 200 micras analizados a las 24, 48, 72 y 96 horas. Se determinó el porcentaje de descelularización mediante tinción de HE y conteo de núcleos celulares. El dispositivo creado permite aplicar una temperatura constante de 37° C a las soluciones durante todo el proceso de descelularización. Con el uso del detergente SDS al 2% durante el proceso de descelularización, nos permite alcanzar resultados aceptables a las 6 horas de iniciado el lavado, con un porcentaje entre el 91.42% al 96.14%. La descelularización de los parches cardíacos por medio de agitación alcanzó su mayor eficiencia a las 72 horas, con un porcentaje de descelularización del 88.41%, menor a la eficiencia de la descelularización en órgano completo por medio de perfusión a temperatura controlada (37° C).

## **ABSTRACT**

Decellularization is the process by which the cellular components of a tissue or organ are removed by physical, chemical, and/or enzymatic means, leaving only the extracellular matrix (ECM) of the tissue. Whole Wistar rat hearts were decellularized, using trypsin and continuous washing with 2% SDS at 37°C, analyzed at 1, 3, 6, and 12 hours; Additionally, 200-micron Wistar rat heart patches were decellularized and analyzed at 24, 48, 72, and 96 hours. The percentage of decellularization was determined by HE staining and cell nucleus counting. The device created allows a constant temperature of 37°C to be applied to the solutions throughout the decellularization process. Using 2% SDS detergent during the decellularization process allowed us to achieve acceptable results 6 hours after the start of washing, with a percentage ranging from 91.42% to 96.14%. Decellularization of cardiac patches by agitation reached its highest efficiency at 72 hours, with a decellularization percentage of 88.41%, lower than the efficiency of whole-organ decellularization by temperature-controlled perfusion (37°C).

## **I) INTRODUCCIÓN**

Tanto a nivel mundial como nacional, las patologías órgano-terminales, generan una gran carga económica y un gran impacto deletéreo a la calidad de vida, derivado de su alta incidencia y prevalencia, así como por el aumento de la prevalencia de patologías asociadas, que alimentan la falla de órgano. En México, la gran demanda de órganos es abrumadora, siendo 2020 un año de alta necesidad en órganos, tales como: córnea, riñón, hígado y corazón (CENATRA, 2021). La problemática de carencia de órganos disponibles para trasplante es tanta, que diariamente causa la muerte de 17 personas que están en lista de espera de algún órgano. A nivel mundial, cada 9 minutos ingresa una nueva persona a lista de espera de trasplantes (HRSA, 2022).

En México, al cierre del año 2021, la cifra de pacientes en lista de espera para trasplante de órgano era de 22,819; de los cuales 17,299 esperaban un riñón, 5,259 córnea, 238 hígado, 54 corazón, 5 hígado-riñón, 2 corazón-riñón, 1 riñón-páncreas y 1 riñón-riñón (CENATRA, 2022a).

La bioingeniería plantea la posibilidad de solucionar la alta demanda órganos con fines de trasplante y una de las vertientes para este fin es la investigación de andamios celulares (Sharma et al., 2019), a través de la búsqueda de perfeccionar técnicas de xenotrasplantes, para órganos tales como riñón, corazón, hígado, etc. (Márquez-Díaz, 2020).

En la actualidad, aún no se ha logrado generar un método de descellularización idóneo, que sea completamente funcional para una óptima recelularización, debido a la gran cantidad de factores que interaccionan en los distintos métodos y técnicas, necesarias para que la MEC preserve sus propiedades físicas y componentes fundamentales para el crecimiento y la adhesión celular (Hillebrandt et al., 2019). Esto genera la necesidad de continuar la investigación e innovación en dichas técnicas de bioingeniería, con el uso de los distintos métodos de descellularización.

## II) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, durante el primer semestre de 2022, el CENATRA cuantificó hasta el 3 de julio, una cifra de 22,583 pacientes en lista de espera para recibir un órgano. Siendo 17,076 pacientes de riñón, 5,192 pacientes de córnea, 248 pacientes de hígado, 57 pacientes de corazón, 6 pacientes de hígado-riñón, 3 pacientes de corazón-riñón, 1 paciente de riñón-páncreas, y 1 paciente de riñón-riñón (CENATRA, 2022b).

En 2021, en contraste con los 22,819 pacientes que estaban en lista de espera en México, en ese mismo año se realizaron 4,410 trasplantes, de los cuales fueron 2,290 de córnea, 1,971 de riñón, 124 de hígado, y 25 de corazón (CENATRA, 2022a). Tanto en México como a nivel mundial, la desproporción entre la demanda de órganos para trasplante y la cantidad de pacientes que logran recibir uno, cada vez es mayor. En México, hasta el primer semestre de 2022, se cuantificó que 22,583 pacientes se encontraban en lista de espera y en ese año, sólo se realizaron 2,827 trasplantes; siendo 1436 de córnea, 1255 de riñón, 120 de hígado, y 16 de corazón (CENATRA, 2022b). Cuando hablamos de ingeniería de tejidos y órganos, una de las principales técnicas de estudios de los andamios celulares es el uso de técnicas de descelularización, de órganos completos para generar andamios acelulares que mantengan íntegra la MEC, para su posterior recelularización, dichos procesos presentan una gran gama de variantes que magnifican la necesidad de investigación en estas áreas de la biomedicina (Mendibil et al., 2020). En la actualidad, no se ha logrado generar un método de descelularización que sea completamente funcional para una óptima recelularización, debido a la gran cantidad de factores que interaccionan en los distintos métodos y técnicas, necesarias para que la MEC preserve sus propiedades físicas y componentes fundamentales para el crecimiento y la adhesión celular (Hillebrandt et al., 2019).

### III) JUSTIFICACIÓN

La necesidad de órganos para trasplante, como el corazón, está asociada a patologías terminales orgánicas como la insuficiencia cardíaca (IC), misma que es provocada por patologías como la cardiomiopatía idiopática en el 72% de los casos y cardiomiopatía isquémica en 17% (Mascaro, 2022). Otras de las causas de IC es la hipertensión arterial (HTA) (Piña-Pozas et al., 2020). A nivel mundial, se estima que 1280 millones de adultos de una edad entre 30 a 79 años presentan HTA, de los cuales, alrededor del 46% desconocen que la padecen (OMS, 2021). En México, se calcula que uno de cada cuatro mexicanos padece HTA (Piña-Pozas et al., 2020).

La necesidad de riñones para trasplante se asocia a la enfermedad renal crónica (IRC), la cual tiene múltiples causas, siendo la HTA y diabetes mellitus (DM), las más frecuentes. Donde la DM es la segunda causa más frecuente de insuficiencia renal terminal en países desarrollados. Así mismo, otros factores relacionados con la IRC, son las infecciones de vías urinarias y el uso inadecuado de medicamentos, tales como: analgésicos y antiinflamatorios (ISB, 2022). Se estima que 1 de cada 10 adultos el mundo, padece IRC. En vista del progresivo aumento de este padecimiento, se pronostica que la IRC sea la quinta causa de muerte para 2040 (CNMAC, 2022). En México, se estima que cada año aparecen 45,000 casos nuevos de IRC, siendo esta patología un gran problema de salud pública (Frías-Cienfuegos, 2022). Los costos derivados de la atención sanitaria para pacientes con enfermedad crónica son muy altos. En México, el costo per-cápita de diálisis peritoneal anual es de \$465,485.96 pesos, y por tratamiento anual de hemodiálisis tiene un coste per-cápita de \$783,780.44 pesos, mientras que el costo anual per-cápita por trasplante renal es de \$799,374.84 pesos (Sánchez-Cedillo et al., 2020).

#### IV) ANTECEDENTES

En la actualidad, no se han establecido criterios y parámetros claros para definir que una técnica es buena para la descelularización (Isidan et al., 2019). En la literatura científica se definen 3 características esenciales para lograr una correcta descelularización: la MEC no debe contener más de 50 ng de ADN por cada mg de peso seco del tejido; los fragmentos de ADN no deben tener más de 200 pb, y; la MEC no deben tener componentes nucleares visibles en secciones de tejido teñidas con 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) o HE; adicional a esto, la descelularización debe eliminar componentes celulares e inmunogénicos. Es importante mencionar que la descelularización no es posible al 100% (Crapo et al., 2011). En 2006, se publicó la primera revisión de diversas técnicas de descelularización para algunos tejidos y desde entonces, se han desarrollado nuevas técnicas de descelularización de órganos completos, empleando diversas metodologías o conjugaciones de éstas, para buscar el mejoramiento en la MEC obtenida (Crapo et al., 2011).

Al emplear el término de descelularización, es necesario el uso del término de recelularización, el cual puede ser definido como la repoblación de la MEC acelular, empleando diversos tipos de células diferenciadas o células madre específicas, con el objetivo de reconstituir la microanatomía del órgano o tejido descelularizado. Los diversos tipos de células empleados para la recelularización requieren tener una correcta interacción con la MEC para su adhesión y funcionalidad, por lo que la MEC debe preservar sus propiedades y componentes (cualidades estructurales), para promover el crecimiento y la adhesión celular, parte del éxito de la recelularización recae en que el proceso de descelularización sea de calidad (Hillebrandt et al., 2019).

Existen diversos métodos de descelularización, desde físicos, químicos y enzimáticos aplicados con éxito a diversos tejidos, o conjugación de los mismos. Actualmente, no sólo se busca la descelularización de tejidos independientes, sino de la descelularización de órganos completos (varios tipos de tejidos) para su posterior recelularización, lo cual crea una limitante para algunos métodos de descelularización como lo son la electroporación

irreversible no térmica y las fuerzas mecánicas, ya que son inadecuados para descelularizar órganos completos (Hillebrandt et al., 2019).

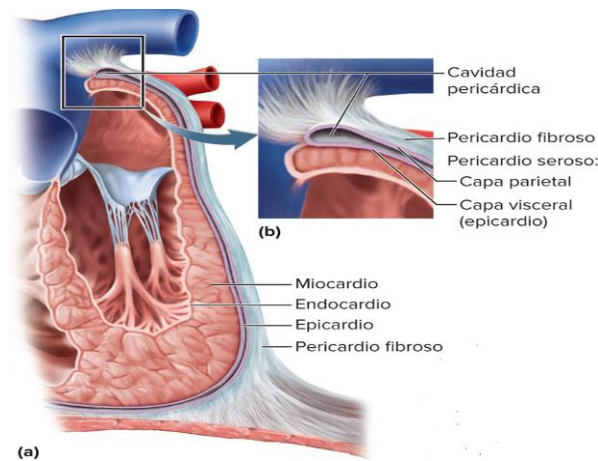
La creación de un nuevo órgano funcional, requiere que el órgano sometido al proceso de descelularización, indistintamente del tipo de técnica o metodología de descelularización, mantenga de forma íntegra su árbol vascular, así como presentar una MEC óptimamente conservada. Si la finalidad es la descelularización de órganos completos, el método por perfusión controlada por presión o flujo es el más adecuado para mantener la red vascular íntegra. Así mismo, este método de perfusión permite exponer de un modo homogéneo, todo el órgano a los distintos agentes descelularizantes favoreciendo una descelularización óptima (Hillebrandt et al., 2019).

#### **4.1 Sistema cardiovascular**

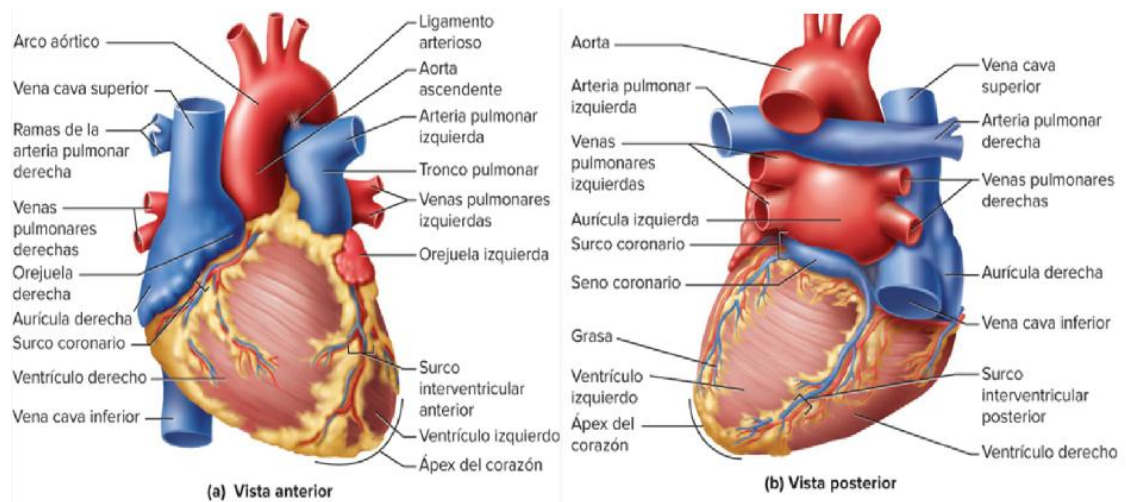
El sistema cardiovascular está conformado por el conjunto de vasos sanguíneos y el corazón. La acción conjunta de estas estructuras permite el transporte de la sangre por todos los órganos y tejidos del cuerpo (Saladin, 2022).

##### **4.1.1 Corazón**

En el ser humano, el corazón es un órgano de alrededor de 12 cm de largo, 9 cm en su punto más ancho, y 6 cm de espesor, con un peso promedio en adultos de 250g (mujer) y 300g (hombre). Está conformado por el pericardio (externo, pericardio fibroso, pericardio seroso) y por la pared cardíaca (epicardio, miocardio, endocardio) (Tortora & Derrickson, 2018).



**Figura 1. Anatomía del corazón.** La figura muestra las capas de la pared cardiaca. **(a)** Corte frontal del corazón y sus capas. **(b)** Pericardio y sus divisiones. **Fuente:** Saladin, 2022.



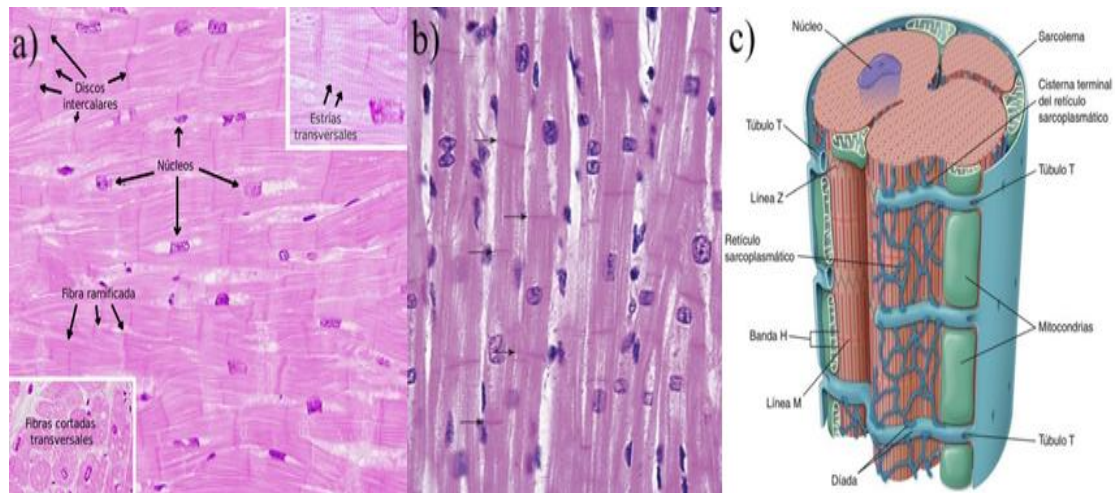
**Figura 2. Anatomía superficial del corazón.** a) Vista anterior de la superficie del corazón. b) Vista posterior del corazón. **Fuente:** Saladin, 2022.

#### **4.1.2 Embriología cardíaca**

La embriología del corazón es sumamente compleja, el corazón fetal en sus etapas tempranas de desarrollo, es sometido a una programación molecular donde participan más de cien genes y factores moleculares que son parte integral de su morfogénesis, incluidos entre estos, el factor inducible por hipoxia, HIF por sus siglas en inglés y homeobox, HOX por sus siglas en inglés (Cunningham et al., 2021). El desarrollo del corazón se da a partir del mesodermo (entre los días 18-19 posterior a la fecundación), estas células mesodérmicas se encuentran ubicadas en el polo cefálico del embrión, denominado campo cardiogénico. Alrededor del día 22 día de vida, el tubo cardíaco primitivo se diferencia en cinco regiones diferentes y a su vez, comienza a bombear sangre: seno venoso, aurícula primitiva, ventrículo primitivo, bulbo cardíaco y tronco arterioso (Tortora & Derrickson, 2018).

#### **4.1.3 Histología cardíaca**

El músculo cardíaco presenta la misma organización y tipo de tejidos que el músculo esquelético, es decir, que las fibras cardíacas y células musculares cardíacas, presentan estrías transversales, dentro de las fibras se encuentran unas bandas denominadas discos intercalares (Ross & Pawlina, 2020). Los cardiomiocitos son las células funcionales del músculo cardíaco. Los cardiomiocitos son células de tipo mononuclear, es decir que son células con el núcleo central. Dichas células presentan dimensiones de longitud corta (80 a 100  $\mu\text{m}$ ), siendo más anchas que las células musculares esqueléticas en aproximadamente 15  $\mu\text{m}$  más (Megías et al., 2022).



**Figura 3. Cardiomiocitos de la pared ventricular de un corazón de rata. a)** Se observan los núcleos de los cardiomiocitos, fibras ramificadas, discos intercalares, estrías transversales y las fibras miocárdicas cortadas transversalmente Fuente: Megías et al., 2022. **b)** Corte longitudinal, donde las flechas señalan los discos intercalares y la ramificación de las fibras miocárdicas. 360x componentes estructurales. **c)** Túbulos T del miocardiocito, con mayor tamaño en comparación con el músculo esquelético, con una cubierta de lámina externa. **Fuente:** Ross & Pawlina, 2020.

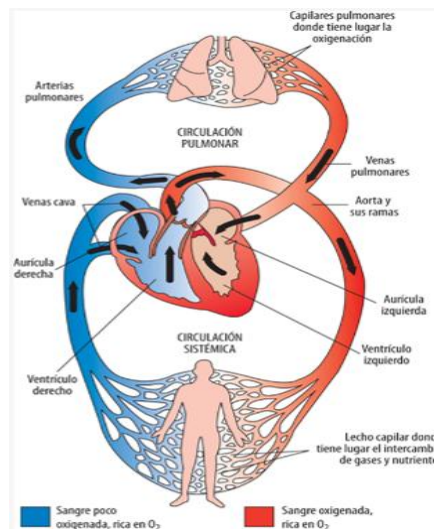
#### 4.1.4 Fisiología cardíaca (Circulación pulmonar y sistémica)

A nivel orgánico existen dos tipos de circulaciones interconectadas: circulación mayor o sistémica y la circulación menor o pulmonar, ambos tipos de circulación son bombeadas por el corazón. La sangre venosa con bajo contenido en oxígeno ( $O_2$ ) y un alto contenido dióxido de carbono ( $CO_2$ ) regresa a la aurícula derecha por medio de las venas cavas superior e inferior y del seno coronario el cual desemboca en la aurícula derecha. La sangre que pasa de la aurícula derecha al ventrículo derecho, donde es enviada por la arteria pulmonar hacia los pulmones, donde se realiza el intercambio de gases ( $O_2$  y  $CO_2$ ) entre los capilares y los alveolos pulmonares (Tamargo & Delpón, 2020).

#### 4.1.5 Electrofisiología cardíaca

Todas las regiones cardíacas del corazón laten en una secuencia ordenada en un estado fisiológico: siendo la contracción de las aurículas (sístole auricular) la primera, siguiéndole la contracción de los ventrículos (sístole ventricular), finalizando la actividad en la diástole donde las cuatro cámaras se relajan. La actividad eléctrica cardíaca se genera en un sistema de conducción cardíaco especializado y de éste, se propaga a todas las partes del miocardio.

El sistema de conducción está conformado por el nodo sinoauricular (nodo SA), el nodo auriculoventricular (nodo AV), las vías auriculares internodales, el haz de His y sus ramas, y por último el sistema de Purkinje. El nodo SA es considerado el marcapasos cardíaco normal, y su velocidad de descarga determina la frecuencia a la que late el corazón. Los impulsos eléctricos siguen el patrón: inicia en la generándose el impulso en el nodo SA, pasando luego a través de las vías auriculares hacia el nodo AV, posteriormente llega hasta el haz de His pasado por las ramas del haz de His para finalizar en el sistema de Purkinje llegando al músculo ventricular (Barrett et al., 2020).



**Figura 4. Diagrama de la circulación menor y mayor.** Vista del circuito cerrado de la circulación pulmonar y la circulación sistémica, donde el color rojo corresponde a sangre oxigenada y en azul, a la poco saturada de oxígeno. **Fuente:** Tamargo & Delpón, 2020.

#### **4.1.6 Patología cardíaca (Cardiopatía)**

Las cardiopatías son el conjunto de enfermedades que afecta el corazón y/o vasos sanguíneos. Los factores de riesgo de las cardiopatías se ven aumentados con el consumo de tabaco, la presión arterial alta, el colesterol alto, alimentación no saludable, la falta de actividad física y obesidad. Dentro de las cardiopatías más comunes se encuentra la cardiopatía coronaria, que puede producir desde dolor de pecho hasta un infarto de miocardio o accidente cerebrovascular. Otras cardiopatías de relevancia clínica son la insuficiencia cardíaca congestiva, arritmias cardíacas, cardiopatías congénitas y la endocarditis (NCI, 2022).

##### **4.1.6.1 Insuficiencia cardíaca (IC)**

La insuficiencia cardíaca (IC), es la forma final más común para la mayoría de las enfermedades cardiovasculares crónicas, como lo son la HTA, arteriopatía coronaria y valvulopatía cardíaca. Las guías clínicas de la American College of Cardiology Foundation/American Heart Association (ACCF/AHA) y la Heart Failure Society of America (HFSA) definen la IC como un síndrome clínico de carácter complejo, resultante de cualquier tipo de afectación estructural o funcional del corrector llenado ventricular o del correcto bombeo de sangre que conduce a manifestaciones clínicas cardinales tales como la disnea, fatiga y retención de líquidos (Givertz & Mehra, 2022).

La IC puede tener dos formas principales de aparición en relación a la duración de los síntomas: constante (crónica), o de comienzo repentino (aguda). Los síntomas de la IC son variados e incluyen: disnea durante una actividad o cuando se está acostado; astenia y adinamia; taquicardia o arritmias; edema en las piernas, en los tobillos y en los pies; tos o sibilancias con moco blanco o rosa manchado de sangre; menor capacidad para hacer ejercicio; distensión del área abdominal; náuseas e hiporexia; dificultad para concentrarse o menor estado de alerta; aumento de peso rápido por retención de líquidos; dificultad para concentrarse; dolor precordial, cuando la IC causa un ataque cardíaco (Mayo Clinic, 2021).

## **4.2 Matriz Extracelular (MEC).**

El tejido conjuntivo forma compartimientos de forma continua por todo el cuerpo, este tipo de tejido está formado de células y MEC. Desde el punto de vista de la embriología, el tejido conjuntivo tiene su origen en el mesodermo (Ross & Pawlina, 2020).

La MEC tiene diversos componentes, entre los principales se encuentra el colágeno, los proteoglicanos y proteínas como la fibronectina y laminina. Dentro de las MEC las proteínas forman sitios de unión para las demás proteínas y para los receptores de superficie celular, promoviendo la interacción de los componentes extracelulares, siendo esta MEC una red interconectada con la superficie celular (Iwasa & Marshall, 2020).

En los mamíferos incluidos los humanos, la mayoría de las células del cuerpo se encuentran rodeadas por una MEC, que protege a los órganos. Así mismo, ésta proporciona elasticidad al tejido u órgano cuando es necesario, como en caso de los vasos sanguíneos, los pulmones y la piel que requiere que el tejido y órgano tenga cierta elasticidad para su correcta funcionalidad. La MEC se encuentra involucrada en una alta gama de procesos, tanto fisiológicos como patológicos, como lo son los procesos del desarrollo embrionario, la inflamación, el cáncer, etc. Algunos componentes de la MEC están involucrados en la fisiopatología de padecimientos tales como la artritis reumatoide y la osteoartritis. De igual modo, la MEC presenta cambios durante procesos fisiológicos como el envejecimiento (Botham & Murray, 2019).

### **4.2.1 Sustancia fundamental de MEC**

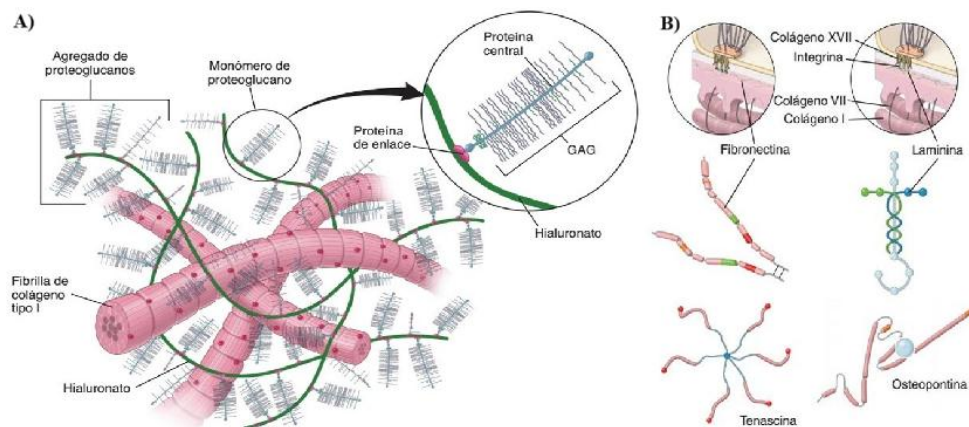
La MEC está conformada de fibras como lo son las fibras de colágeno y las fibras elásticas, además, contiene la sustancia fundamental, la cual llena el espacio que se da entre las fibras y las células. La sustancia fundamental está formada por glucosaminoglicanos, proteoglucanos y glucoproteínas multiadhesivas, cuando se observa en microscopía es amorfa, con una consistencia viscosa, transparente, resbalosa al tacto y con un contenido muy alto de agua (Ross & Pawlina, 2020).

#### 4.2.1.1 Glucosaminoglicanos (GAG)

Los glucosaminoglicanos (GAG) son macromoléculas y según la forma del azúcar que los compone, los GAG se clasifican en cuatro familias: heparina/heparán sulfato, condroitina/dermatán sulfato, queratán sulfato y hialuronato. Las cadenas de GAG están unidas a una proteína central denominada proteoglicano (PG), los PG se consideran como un glicoconjugado de los más complejos estructuralmente. Los GAG son polisacáridos aniónicos lineales no ramificados que se encuentran compuestos de 10 a 200 unidades de disacáridos (Song et al., 2021).

#### 4.2.1.2 Proteoglicanos (PG)

Los proteoglicanos (PG) son un tipo de biomolécula compleja que consisten en un núcleo de proteína al cual se le unen de forma covalentemente una o más cadenas de glucosaminoglicanos (Tzanakakis et al., 2019).



**Figura 5. Estructura en la MEC.** A) Estructura de proteoglicanos: Vista de un monómero de proteoglicano y su relación con otras moléculas de adhesión, como el hialuronato, en la sustancia fundamental del cartílago. El proteoglicano está formado por una proteína central, al cual se unen los GAG por medio de enlaces covalentes. Uno de los extremos de la proteína central del monómero de PG, se encuentra interactuando con una proteína de enlace, que se encargan de fijar al hialuronato para formar un conjunto de proteoglicanos. B) Glicoproteínas multiadhesivas: Las glicoproteínas multiadhesivas son fundamentales para estabilizar la MEC y unirla con la superficie celular. Estas glicoproteínas tienen una

gran variedad de formas y múltiples sitios de unión para otras proteínas como, colágenos, proteoglicanos y GAG. **Fuente:** Ross & Pawlina, 2020.

#### **4.2.1.3 Glucoproteínas**

Las glucoproteínas, forman puentes entre diversas moléculas estructurales de la MEC, así mismos puentes entre estas mismas proteínas estructurales de la MEC y las células (Megías et al., 2019). Estas glucoproteínas multiadhesivas, si bien son un grupo pequeño de proteínas, son fundamentales por su gran número de sitios de unión, uniendo componentes de la MEC como colágenos, proteoglicanos y GAP. Así mismo, estas glicoproteínas interactúan con receptores presentes en la superficie celular, como lo son los receptores de integrina y laminina. Dentro de las glucoproteínas multiadhesivas encontramos: fibronectina, laminina, tenascina, osteopontina y entactina también llamada nidógeno (Ross & Pawlina, 2020).

##### **4.2.1.3.1 Fibronectina**

La fibronectina es una proteína con un arreglo lineal de bloques para cada polipéptido, presenta una construcción modular, cada molécula de fibronectina se forma a partir de una secuencia de alrededor de 30 módulos plegables de manera independiente. Cada una de las dos cadenas polipeptídicas que forman la estructura de la fibronectina, contienen sitios de unión para muchos componentes de la MEC, como las fibras de colágeno, proteoglicanos y sitios de unión para receptores que se localizan en la superficie celular. Estas áreas de unión sirven para fijar de una manera estable la MEC a las células (Iwasa & Marshall, 2020). Las fibronectinas presentan un peso molecular de 250-280 kDa, su composición molecular es dada por una molécula dimérica, que está formada por un par de péptidos similares, que están unidos por un enlace disulfuro. Las fibronectinas están presentes en la MEC de un gran número de tejidos, sus funciones no sólo incluyen la adhesión celular, sino también intervienen en la migración celular; presenta sitios de fijación/unión para las integrinas, colágeno tipo IV, heparina y fibrina (Ross & Pawlina, 2020).

#### **4.2.1.3.2 Laminina**

Las lamininas son uno de los principales elementos que componen la lámina basal. Su estructura proteica está formada por 3 cadenas de aminoácidos altamente glicosiladas, que están unidos por puentes disulfuros (Megías et al., 2019). La molécula de laminina presenta una forma de X, donde las cadenas de péptidos son una de cadena  $\alpha$  y dos de cadena  $\beta$ , el peso molecular de la laminina oscila entre 140 a 400 kDa, éstas se encuentran presentes en las láminas basales de todas las células epiteliales y en las láminas externas de células musculares, adipocitos y células de Schwann. Sus principales funciones incluyen la fijación de las superficies celulares a la lámina basal; por sus sitios de unión se fija, colágeno tipo IV, heparán-sulfato, heparina, entactina, laminina y receptores de integrina que están en la superficie celular (Ross & Pawlina, 2020).

#### **4.2.1.3.3 Entactina**

La entactina, también llamada nidógeno, es un tipo de glicoproteína multiadhesivas, con un peso molécula de 150 kDa, la entactina es un tipo de proteína específica de la lámina basal, conformada por una glucoproteína sulfatada monocatenaria en forma de varilla, esta glucoproteína se encarga de vincular la laminina y el colágeno tipo IV, así mismo, la entactina presenta sitios de unión para el perlecano y fibronectina (Ross & Pawlina, 2020).

#### **4.2.1.3.4 Tenascina**

La tenascina presenta una composición molecular de una proteína gigante formada por seis cadenas conectadas por enlaces disulfuros, con un peso molecular de 1680 kDa. La tenascina se encuentra presente en el mesénquima embrionario, pericondrio, periostio, uniones músculo-tendinosas, heridas y tumores. La tenascina presenta varias funciones como: la modulación de las adhesiones celulares a la MEC; así mismo, presenta sitios de fijación para fibronectina, heparina, factores de crecimiento similares a factores de crecimiento epitelial (EGF), integrinas y moléculas de adhesión celular (Ross & Pawlina, 2020).

#### **4.2.1.3.5 Osteopontina**

Es un tipo de glucoproteína multiadhesivas ubicadas en el hueso, con un peso molecular de 44 kDa, conformada por un polipéptido glucosilado monocatenario, sus funciones incluyen: unirse a osteoclastos, así mismo presenta sitios de fijación para calcio, hidroxipatita y receptores de integrina presente en la membrana del osteoclasto (Ross & Pawlina, 2020).

#### **4.2.2 Fibras proteicas de la MEC**

Dentro del tejido conjuntivo podemos encontrar distintos tipos de fibras proteicas, siendo las principales, fibras de colágeno, fibras reticulares y fibras elásticas. Cada tipo de fibra se genera en los fibroblastos, estas fibras son compuestas de cadenas peptídicas largas (Ross & Pawlina, 2020). Las fibras se encuentran inmersas en la sustancia fundamental de la MEC, donde brindan elasticidad y resistencia a la tracción. Cabe mencionar que tradicionalmente las fibras reticulares con consideraras como un grupo separado de las fibras elásticas y de colágeno, las fibras reticulares son en realidad fibras de colágeno tipo III, y el termino de fibras reticulares se conserva tanto por razones histológicas estructurales, así como la finalidad de diferencias órganos, cuya composición es abundante en fibras de colágeno tipo III (Gartner, 2021).

##### **4.2.2.1 Fibra de colágeno o colágena**

Las fibras de colágeno son el componente más abundante de tipo estructural del tejido conjuntivo. Las fibras de colágeno son flexibles, así mismo, presentan una gran resistencia tensora. El tamaño de las fibras de colágeno varia, en el caso de tejidos en desarrollo o tejidos inmaduros presentan un diámetro de no más de 15 o 20 nm, mientras que, en el caso de tejidos conjuntivos densos regulares, encontrados en tendones o en tejidos que son sometidos a una gran tención el diámetro de las fibras puede ser de hasta 300 nm, estas fibras de colágeno tienen un patrón de bandas transversales de 68 nm (Ross & Pawlina, 2020).

Las fibras de colágeno, estas formadas por colágeno, esta proteína es dura, firme e inelástica, de alta abundancia en el cuerpo humano (25-30%), el colágeno que es la subunidad de fibra de colágena es denominada tropocolágeno, dicha proteína está formada

de tres cadenas  $\alpha$  entrelazadas. Existen al menos 30 tipos de colágeno que forman fibras con propiedades diferentes que están localizadas en distintos tejidos orgánicos con mayor abundancia en algunos tejidos que en otros. Los 30 tipos de colágeno se clasifican en: formador de fibrillas; asociado a fibrillas; formador de redes; y colágenos transmembrana, dentro de los colágenos formadores de fibrillas, se encuentran los colágenos de tipo I, II, III, V y XI (Gartner, 2021).

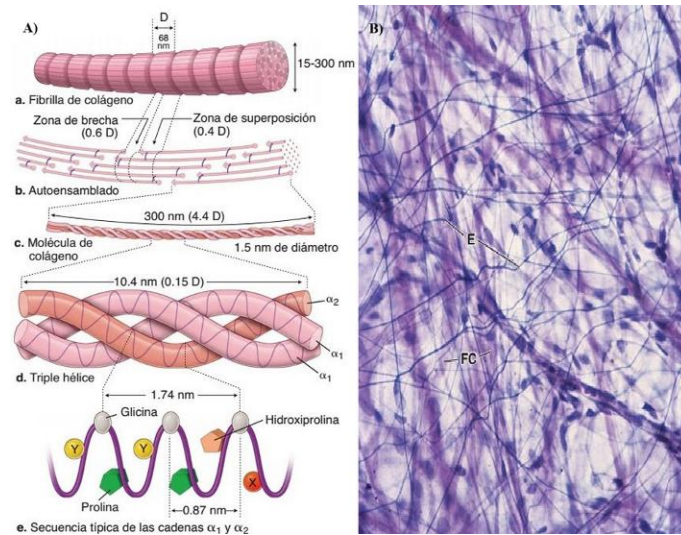
#### **4.2.2.2 Fibras elásticas**

Las fibras elásticas de la MEC se encargan de brindar gran parte de la elasticidad del tejido conectivo. La diferencia principal entre las fibras elásticas y las fibras de colágeno en la MEC, es su adaptabilidad y la cualidad de las fibras elásticas de poder alargar su longitud en 1.5 veces su longitud inicial sin romperse, regresando a su estado inicial al liberar la fuerza. Las fibras elásticas pueden ser encontradas en abundancia en el ligamento amarillo de la columna vertebral, en paredes de vasos sanguíneos, como en el caso de la aorta donde el 50% de peso seco de la misma corresponde a fibras elásticas (Gartner, 2021).

##### **4.2.2.2.1 Elastina**

Las fibras elásticas son producidas en los fibroblastos del tejido conjuntivo, también son sintetizadas por células del músculo liso presente en vasos sanguíneos. La composición de las fibras elásticas es de elastina, fibrilina I y fibulina 5, así como de colágeno tipo VIII (Gartner, 2021). La elastina es una proteína con una concentración amplia de residuos de glicina, lisina, alanina, valina y prolina, sin hidroxilisina, la elastina es derivada del precursor denominado tropoelastina (Gartner, 2021). La elastina como su nombre lo indica proporciona elasticidad, esta propiedad molecular se relaciona con el esqueleto polipeptídico de la elastina, el cual es poco habitual, este esqueleto genera el enrollamiento aleatorio de la elastina. Esta proteína de alrededor de 72 kDa de masa molecular, presenta una gran cantidad de regiones hidrófobas (más del 80% de su estructura molecular), alternadas con regiones hidrófilas (Ross & Pawlina, 2020).

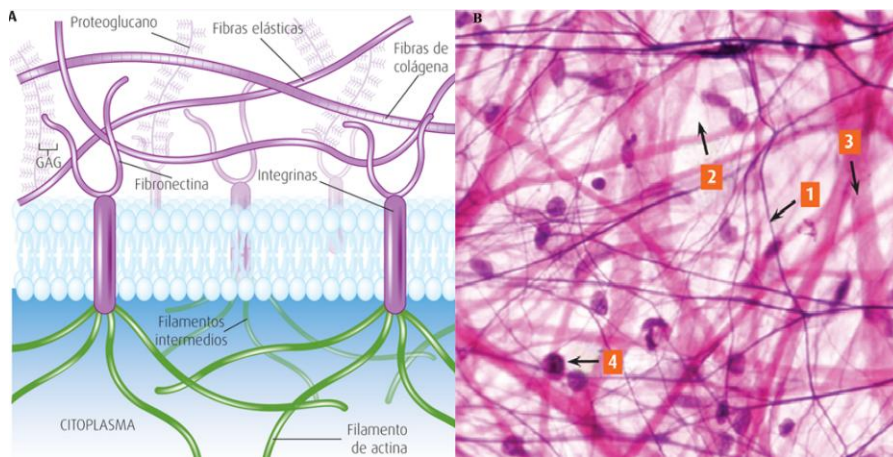
La proteína elastina esta codificada por el gen de la elastina (ELN), siendo uno de los genes más grandes presentes en el genoma humano, con una longitud de 48 kilobases de DNA genómico del cromosoma 7 (Ross & Pawlina, 2020).



**Figura 6. Fibras de colágeno y elásticas.** A) Fibra de colágeno tipo I: Se observa de forma creciente la estructura de una fibra de colágeno tipo I. a) muestra una fibrilla de colágeno y sus bandas con una distancia de 68 nm entre cada una; b) Cada fibrilla de colágeno es autoensamblada en forma escalonada a partir de moléculas de colágeno, unidas por enlaces covalentes con residuos de lisina e hidroxilisina; c) la molécula de colágeno tiene una longitud de 300nm y 1.5 nm de diámetro; d) contiene una triple hélice de unión cruzada por varios enlaces de hidrógeno entre glicinas y proteínas; e) la triple hélice presenta tres cadenas  $\alpha$ , donde cada tercer aminoácido es una glicina. B) Micrografía fibras de colágeno y elásticas: Se muestra una micrografía de mesenterio expandido, teñido con resorcina fucsina 200x. Donde por lo delgado del tejido se pudo enfocar todo el espesor del tejido. La simbología corresponde a: E) Fibras elásticas; FC) Fibras de colágeno, éstas son más gruesas que las fibras elásticas, las fibras de colágeno se entrecruzan, pero no se ramifican. **Fuente:** Ross & Pawlina, 2020.

#### 4.2.2.3 Fibras reticulares

El colágeno de tipo III, también es conocido como fibra reticular, este tipo de colágeno es un tipo de colágeno formador de fibrillas, las cuales forman el entramado estructural de algunos órganos como hígado, ganglios linfáticos, bazo, pulmón y andamiaje de algunos tejidos como, el tejido muscular y el tejido adiposo (Gartner, 2021).



**Figura 7. Matriz extracelular. A:** Componentes de la MEC; **B:** Micrografía de tejido conectivo laxo donde se observan: 1) Fibras de colágena, 2) Espacios ocupados por la sustancia fundamental, 3) Vasos sanguíneos, 4) Células. **Fuente:** Saavedra & Domínguez, 2014.

#### 4.3 Ingeniería tisular y Descelularización

El término de ingeniería tisular, comenzó a aplicarse hace aproximadamente tres décadas, para referirse al tipo de ingeniería interdisciplinaria, centrada en la regeneración de nuevos tejidos, empleado células, biomateriales y factores de crecimiento. La finalidad de la ingeniería tisular es buscar un nuevo tipo de terapéutica para solventar los problemas del desarrollo de órganos artificiales en la actualidad, así como el trasplante de órganos. Si bien la ingeniería tisular actualmente ha tenido una interacción mínima en pacientes, se ha

empleado en tejidos tales como: la piel, hueso, cartílago, periodontal y tejido capilar (Sharma et al., 2019).

En busca de la resolución de la alta demanda de órganos, y tejidos para uso clínico en humanos, se han encontrado avances relativamente recientes, los cuales se pueden agrupar en dos grupos: órganos producidos por modificaciones genéticas en animales como el cerdo, y el grupo de obtención, creación, impresión 3D, y uso de andamios celulares, así como su repoblación celular (Sharma et al., 2019).

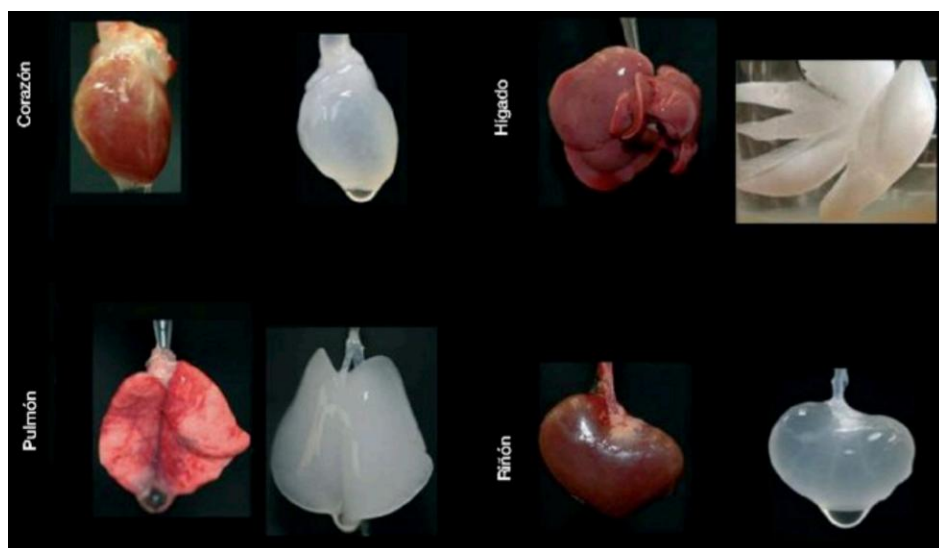
Los xenotrasplantes, son los trasplantes de órganos derivados de alguna otra especie diferente a la humana, como es el caso de los cerdos, para trasplantes de órganos de corazón, hígado, pulmón y riñón, etc., por su tamaño similar a los órganos humanos, dichos órganos son generados en cerdos transgénicos, los cuales son producto de la inseminación artificial en la madre porcina, con un espermatozoide porcino de ADN humano introducido por un vector (Márquez-Díaz, 2020).

Los avances en la ingeniería tisular han permitido la creación de dos tipos de andamios, para el cultivo celular de tejidos y órganos, el primero es el uso de andamios acelulares derivadas de la MEC nativa de ciertos tejidos y órganos, a las cuales se les retira las células nativas. Este tipo de andamios favorece la repoblación celular por medio de señales moleculares, pero así mismo, genera algunas limitantes tales como su potencial riesgo de infección e inmunogenicidad al usar andamios acelulares de especies distintas entre sí. Estas limitantes entre otras, generan la necesidad de investigación en el segundo tipo de andamios, donde estos son fruto de biomateriales sintéticos, que por lo regular son de elastina y fibronectina de colágeno, en conjunto con células madre pluripotentes que son inducidas por humanos hiPSC (por sus siglas en inglés) (Sharma et al., 2019).

El término de descelularización se refiere a la eliminación de componentes celulares de tejidos u órganos para producir una MEC que mantenga sus proteínas estructurales activas. Dichas MECs pueden utilizarse en la ingeniería de tisular. Existe una gran cantidad de métodos y técnicas de descelularización, cuya eficacia varía de acuerdo con el tipo de tejidos y órganos, y sus factores estructurales, tales como el tipo de célula, densidad celular,

grosor del tejido y el contenido de lípidos en el tejido, las MECs sirven como molde para órganos y tejidos (Rabbani et al., 2021).

Un proceso de descelularización eficaz incluye la eliminación completa de células, ADN y otros antígenos celulares, para evitar las respuestas inmunes. La remoción de estos componentes se debe realizar manteniendo la estructura principal y las propiedades mecánicas de la MEC (Mousavi et al., 2021).



**Figura 8. Descelularización de órganos.** Se observan diversos órganos de rata Wistar (Corazón, Pulmón, Hígado, Riñón), sometidos al proceso de descelularización. **Fuente:** Beltrán & González, 2016.

#### 4.3.1 Métodos de Descelularización

Para los procesos de descelularización de órganos, generalmente se usa la combinación de diferentes técnicas físicas, químicas y enzimáticas, todo en función de tejido específico. Potencialmente, cada técnica puede comprometer la MEC, en función de los compuestos utilizados y la composición de la MEC. En la siguiente tabla se mencionan las principales técnicas y métodos de descelularización, así como su mecanismo de acción y los efectos adversos para la MEC en base a lo mencionado por Mendibil et al., en 2020.

| <b>Tabla 1. Métodos para procesos de descelularización Fuente: (Mendibil et al., 2020).</b> |                                                                                    |                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Físico</b>                                                                               |                                                                                    |                                                                                  |
| <b>Método</b>                                                                               | <b>Mecanismo de acción</b>                                                         | <b>Efectos secundarios en matriz extracelular</b>                                |
| Congelación                                                                                 | Los cristales creados en el proceso de congelación destruyen la membrana celular.  | La estructura proteica general de la MEC puede verse comprometida.               |
| Fuerza                                                                                      | La presión mecánica puede ser suficiente para inducir la lisis en algunos tejidos. | Limitado a tejidos duros, ya que puede dañar gravemente la estructura de la MEC. |
| Agitación                                                                                   | Facilita la infiltración de agentes químicos e induce lisis celular.               | Los procesos agresivos como la sonicación pueden dañar gravemente el MEC.        |
| Descelularización asistida por vacío (VAD)                                                  | Permite que los agentes químicos lleguen a las partes más internas del tejido.     | No es un método de descelularización sino un facilitador.                        |
| Presión hidrostática                                                                        | Aplica alta presión al tejido e induce la lisis celular.                           | La presión excesiva puede dañar la estructura.                                   |
| <b>Químicos</b>                                                                             |                                                                                    |                                                                                  |
| <b>Método</b>                                                                               | <b>Mecanismo de acción</b>                                                         | <b>Efectos secundarios en matriz extracelular</b>                                |
| Ácido-Base                                                                                  | Solubiliza los componentes citoplasmáticos, altera los ácidos nucleicos.           | Daña el colágeno y los glicosaminoglicanos (GAG)                                 |

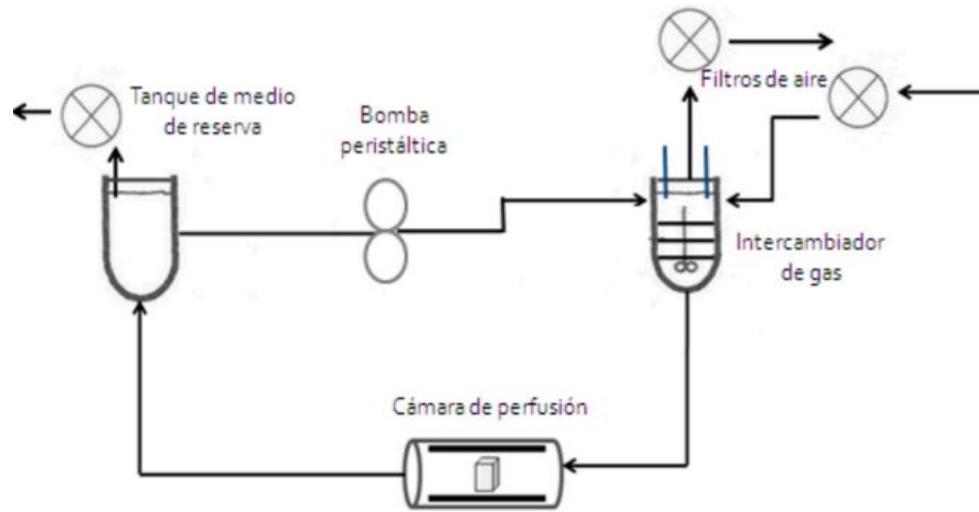
|                                        |                                                                                                        |                                                                                                           |
|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tritón X-100                           | Rompe las uniones lípido-lípido y lípido-proteína, dejando intactas las interacciones entre proteínas. | No recomendado para MEC donde los lípidos y GAG son componentes importantes.                              |
| Tritón X-200                           | Similar a su contraparte X-100. Muy eficaz en algunos tejidos.                                         | Debe combinarse con un detergente iónico híbrido para que sea eficaz. Daña la MEC de forma similar a SDS. |
| Dodecilsulfato de sodio (SDS)          | Licúa las membranas celulares internas y externas.                                                     | Desnaturaliza proteínas y puede dejar desechos nucleares y citoplasmáticos en la matriz restante.         |
| CHAPS                                  | Propiedades de los detergentes iónicos y no iónicos.                                                   | Daño similar al reportado con Tritón X-100.                                                               |
| TBP                                    | Interrumpe las interacciones proteína-proteína.                                                        | Resultados variables, causa degradación del colágeno, pero manteniendo las propiedades mecánicas.         |
| Soluciones hipertónicas e hipotónicas. | Presión osmótica para hacer explotar la membrana.                                                      | Gran cantidad de desechos celulares en la MEC restante.                                                   |
| <b>Enzimas</b>                         |                                                                                                        |                                                                                                           |
| <b>Método</b>                          | <b>Mecanismo de acción</b>                                                                             | <b>Efectos secundarios en</b>                                                                             |

|                                          |                                                                       | <b>matriz extracelular</b>                                                                           |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EDTA, EGTA<br>(Agentes descalcificantes) | Rompe la adhesión celular a la matriz, suele combinarse con tripsina. | En realidad, no mata las células.                                                                    |
| Tripsina                                 | Digestión de proteínas de membrana que conducen a la muerte celular.  | Puede dañar las proteínas en el MEC, en particular laminina y GAG.                                   |
| Pepsina                                  | Actúa en los enlaces peptídicos, degradando proteínas.                | Causa un gran daño en las proteínas de la MEC si se deja por mucho tiempo.                           |
| Endonucleasas y exonucleasas             | Degradación del material nuclear dentro y fuera del núcleo.           | Se requiere una mayor limpieza y eliminación de enzimas, ya que pueden promover la respuesta inmune. |

Las técnicas y métodos de descelularización son empleados y conjugados dependiendo del tipo de tejido que se pretende descelularizar. Para la descelularización de arterias umbilicales, se ha empleado protocolos de descelularización de SDS y Tritón X-100 con varios niveles de concentración (Garza, 2019). Para órganos como el riñón de rata Wistar, se han empleado protocolos de descelularización, semejantes, empleado SDS y Tritón X-100 con varios niveles de concentración y tiempo de lavado (Pérez-Salazar, 2020).

#### **4.4 Birreactores en ingeniería tisular**

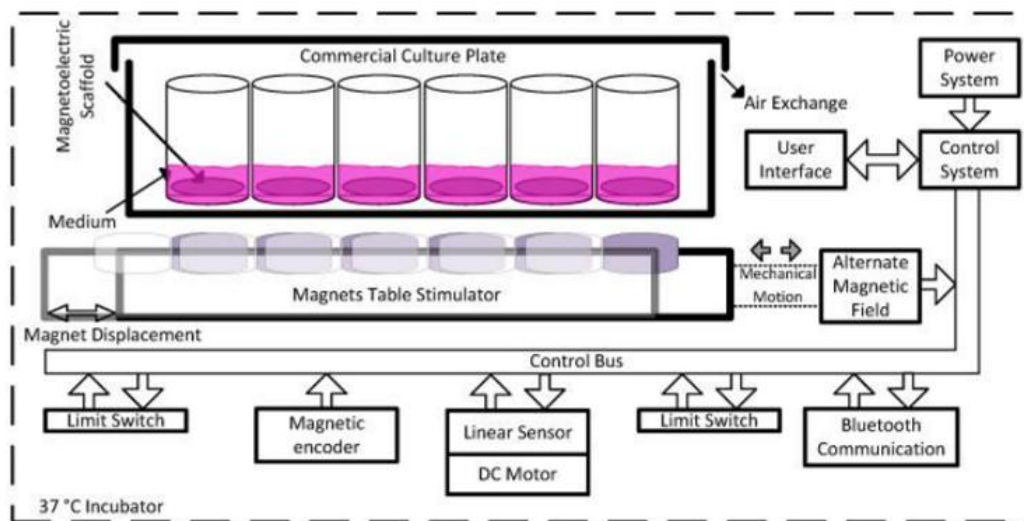
Los biorreactores, cada vez son más frecuentes de usar en la ingeniería de tejidos, la razón del aumento de su uso es que estos dispositivos permiten recrear el microambiente nativo de células/tejidos (Castro et al., 2020).



**Figura 9. Diseño de biorreactor de perfusión para descelularización de órganos.** Se muestran los componentes básicos de un bioreactor. **Fuente:** Beltrán & González, 2016.

Los biorreactores se emplean para mantener y controlar las condiciones fisiológicas necesarias durante la descelularización y recelularización, las determinantes como: pH; presión de perfusión; presión circundante o las velocidades de flujo de perfusión, influyen directamente en el resultado de la descelularización de órganos completos. En el caso del proceso de recelularización, los biorreactores funcionan como un sistema de control y monitoreo en tiempo real de las variantes fisiológicas necesarias tales como: pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$ , temperatura, concentración de electrolitos, glucosa o lactato, parámetros de perfusión, como la presión de perfusión y los caudales (Hillebrandt et al., 2019).

Existe una gran variedad de biorreactores, cuyos componentes son distintos en función de su uso. Dentro de la ingeniería tisular existen varios tipos de bioreactor, con cualidades particulares dependiendo del tipo de tejido u órgano a trabajar, un ejemplo de esto son los biorreactores magnéticos, los cuales incorporan el uso de fuerzas magnéticas y el uso de andamios magnetoeléctricos, el uso de estos es una técnica novedosa en el campo de bioingeniería de tejidos (Castro et al., 2020).



**Figura 10. Diseño de biorreactor electromagnético.** Se observa el funcionamiento de un biorreactor magnetoeléctrico, a partir del uso de controles eléctricos y mecánicos para producir un campo magnético alterno y de este modo, estimular los andamios magnetoeléctricos y, por consiguiente, las células. **Fuente:** Castro et al., 2020.

Dentro de la gama de biorreactores en procesos de descelularización se opta de forma regular por biorreactores de baja perfusión (Mousavi et al., 2021). Esta propiedad de baja perfusión de los biorreactores también está incluida en las técnicas novedosas al igual que los biorreactores magnéticos (Castro et al., 2020). El proceso de recelularización, presentan una definición clara, a diferencia del concepto de descelularización. La recelularización se define como la repoblación de la MEC acelular con diversos tipos de células diferenciadas o células madre específicas, con el objetivo de reconstituir la microanatomía de un órgano. Existen diversos tipos celulares empleados para la recelularización, las cuales requieren tener interacción con la MEC para su adhesión y funcionalidad, por lo que la MEC debe preservar sus propiedades físicas, así como componentes para promover el crecimiento y la adhesión celular, por esta razón el proceso de descelularización debe ser de calidad (Hillebrandt et al., 2019).

Para lograr crear un neo-órgano funcional, se requiere que el órgano sometido a alguna técnica de descelularización mantenga intacto su árbol vascular, así mismo que presente una MEC óptimamente conservada. Si la finalidad es la descelularización de órganos completos y no sólo un tejido de éste, el método por perfusión controlada por presión o flujo es el más adecuado, ya que este método permite exponer de un modo homogéneo, a todo el órgano a los distintos agentes descelularizantes (Hillebrandt et al., 2019). La versatilidad de las variables necesarias para la descelularización ideal, crea la necesidad investigar e innovar nuevas formas para lograr una descelularización óptima y una posterior recelularización, pero dichas innovaciones deben ser con un sistema de baja perfusión.

#### **4.5 Radiación Ultravioleta (UV)**

La radiación UV, es un tipo de radiación no ionizante, la cual es emitida por el sol y algunas fuentes artificiales, como las camas bronceadoras, luces de halógeno, algunos láseres, etc., La radiación UV se puede clasificar en tres tipos principales: Ultravioleta A (UVA); Ultravioleta B (UVB); Ultravioleta C (UVC). Dicha clasificación se debe a la medida de su longitud de onda, la cual es medida en nanómetros ( $\text{nm} = 0.000000001$  metros o  $1 \times 10^{-9}$  metros), presentando una longitud de onda de: 315-399 nm la UVA; 280-314nm la UVB; y 100-279 nm la UVC (Centers for Disease Control and Prevention [CDC], 2021b). La radiación UV interactúa con los distintos tipos de organismos vivos tanto favorablemente como desfavorablemente, dependiendo de la duración de exposición y el tipo de UV (CDC, 2021b). La irradiación ultravioleta se utiliza en los entornos sanitarios como un modo alternativo de desinfección en estos entornos, aunque en este caso, normalmente se emplea la irradiación a través de un sistema automatizado, permitiendo una menor exposición al personal que la emplea (Beauduy & Winston, 2019).

La luz ultravioleta (UV) que es emitida en un rango de longitud de onda entre 240 a 280 nm es absorbida por ácidos nucleicos, causando daño genético (Ryan & Sherris, 2021). La aplicabilidad de la luz ultravioleta con fines de esterilización es limitada por la poca capacidad de penetración de ésta (Ryan & Sherris, 2022).

La radiación UV presenta una longitud de onda variedad que va de los 328 nm a 210 nm, es decir de 3280 a 2100 Å (Ángstrom). El máximo bactericida de la luz ultravioleta (UV) se

produce en una longitud de onda de 240-280 nm. La inactivación de los microorganismos es dada por la destrucción de ácidos nucleicos, a través de la inducción de dímeros de timina. La luz ultravioleta elimina con mayor facilidad las bacterias y los virus que las esporas de origen bacteriano. Este efecto no solo es influenciado por la longitud de onda, sino también por: materia orgánica, tipo de suspensión, temperatura, tipo de microorganismo e intensidad UV, la cual es dada por la distancia entre la fuente UV y el área a irradiar (CDC, 2016).

La irradiación ultravioleta con un fin germicida, también abreviada con las siglas UVGI, emplea la energía ultravioleta (UV) para matar organismos de tipo viral, bacteriano y fúngico. Los dispositivos UVGI producen radiación ultravioleta de tipo UV-C, la cual presenta longitudes de onda más cortas que los rayos UV-A y UV-B, siendo la UVC más penetrante y de menor riesgo para la salud humana, su uso en este concepto se remonta al año 1950, donde fue utilizada para la eliminación de microorganismos en el aire y en superficies (CDC, 2021a)

## **V) HIPÓTESIS**

Se desarrollará una nueva técnica de descelularización con UV y manejo de temperatura, mediante baja presión hidrostática en corazón de rata Wistar, que mejorará las características finales de la MEC obtenida en términos de descelularización, para posteriores procesos de recelularización.

## **VI) OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo general**

Desarrollar una técnica de descelularización en prototipo de dispositivo Multi-descelularizador-UV empleando baja presión hidrostática en corazón de rata Wistar, para la obtención de una MEC óptima.

### **6.2 Objetivos específicos**

1. Desarrollar el método de descelularización en prototipo dispositivo Multi-descelularizador-UV de órganos densos (Corazón) en rata Wistar.
2. Diseñar y fabricar un dispositivo de descelularización de múltiples órganos, con baja presión y luz ultravioleta.
3. Desarrollar el manual operativo para el uso del prototipo Multi-Descelularizador-UV.

## VII) MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Diseño de estudio:

El presente trabajo fue un estudio de tipo experimental, con un muestreo no probabilístico, con el uso de ratas Wistar macho **Anexo 1. Manipulación de Ratas Wistar (A)**, a las cuales se les extrajo órganos densos (corazón). Los experimentos siguieron los lineamientos de la Norma Oficial Mexicana de Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), NOM-062-ZOO-1999, se evitó el sufrimiento innecesario a los animales de experimentación. En experimento se dividió en dos tipos de órganos: Corazón Control (Sin Descelularizar) y Corazón Experimental (Descelularizado).

### 7.2 Corazón Control (No Descelularizado) y Corazón Experimental (Descelularizado)

Uso de ratas Wistar machos (*Rattus norvegicus*), para la extracción de órganos (corazón). El grupo órgano-control (No Descelularizado) se formó con el análisis histológico de tres corazones, así mismo para el grupo de órgano-experimental (Descelularizado) también se analizaron histológicamente tres corazones de rata Wistar, con la finalidad de obtener resultados por triplicado.

#### 7.2.1 Extracción de órganos en ratas

Para la extracción de los corazones tanto del grupo de órgano control y órgano experimental, se tomó y registró el peso corporal de cada una de las ratas, y en base a esto, se administró por vía peritoneal pentobarbital sódico al 6.5% a dosis 60 mg/Kg (dosis eutanasia). Se verificó la anestesia a través de una punción con aguja hipodérmica en la cola de la rata, habiendo pasado 5 minutos tras la aplicación del pentobarbital, al no presentar respuesta motora (estímulo doloroso), se procede a verificar la eficiencia de la anestesia presionó las patas inferiores de las ratas, para realizar la primer incisión **Anexo 1. Manipulación de Ratas Wistar (B)**, se procedió con una toracotomía **Anexo 1. Manipulación de Ratas Wistar (C-D)**, al estar expuesto los órganos y aún latiendo el corazón de la rata, se administró por vía central heparina a dosis de 100 UI/kg, se esperó un lapso de 5 minutos para garantizar la plena distribución de la heparina en todo el corazón, se procedió a extraer el corazón, salvaguardado los vasos mayores cardiacos. Posterior a la

exanguinación, se introdujo el corazón en PBS para garantizar la exanguinación total y quitar los residuos de heparina. Dependiendo del uso que se les dio a los órganos, se sumergieron en paraformaldehído (PFA) al 4% en el caso del órgano control para su procesamiento histológico (Hematoxilina y eosina, Tricrómica de Masson), los órganos control para la cuantificación de DNA, se congelaron a -20° hasta su análisis respectivo. En el caso del grupo experimental, se canalizó por la aorta con un catéter periférico corto del 19 G, sujetándolo con hilo de sutura, luego fueron congelados a -20° C hasta que fueron sometidos al proceso de descelularización.

### **7.2.2 Descelularización de Corazón de Rata Wistar en Prototipo de Dispositivo Multi-Descelularizador-UV**

El dispositivo siguió un protocolo propio en vista de ser un dispositivo creado para tales fines, contemplado en el manual de uso del dispositivo. Los pasos fueron: Lavar con agua y jabón neutro la cámara de órganos, empleando abundante agua, procurando evitar residuos de jabón, se repitió el tipo de lavado en las camas de órgano. Una vez que las piezas estuvieron plenamente lavadas, se aplicó alcohol al 70% isopropílico en la cámara y en las camas, así como en el exterior del dispositivo, siguiendo los principios de asepsia y se esperó hasta que se volatilizó el alcohol en su totalidad. Se activó la luz UV por 15 minutos antes de su uso, el procedimiento de la luz UV se realizó dentro de la campana de flujo laminar. Los órganos se descongelaron a temperatura ambiente y se conectaron al sistema de perfusión (Equipo de venoclisis de tipo normogotero), previamente purgado (precargada), con equipos por separado para cada órgano. La manipulación de los contenedores de órganos fue posterior a la desinfección con alcohol isopropílico al 70%, con una manipulación de campo estéril y uso de técnica cerrada de guantes para la manipulación y colocación de los órganos en las camas de descelularizado. Se colocaron los órganos en una posición anatómica, siguiendo este principio para la direccionalidad de la canalización del órgano. Se monitorizó la perfusión de los órganos, realizado el cálculo de las presiones y velocidades de flujo.

Los órganos experimentales fueron sometidos a los lavados de soluciones de descelularizado en el siguiente orden: lavado con Tripsina y EDTA al 0.025% (diluida en

PBS a 37° C) durante 30 minutos, lavado con PBS 5 minutos, lavado con SDS al 2% a temperatura 37° C durante periodos de 12 horas, 6 horas, 3 horas y 1 hora. Durante el lavado de SDS se usaron periodos de irradiación UV de 20 minutos de duración cada una, a la mitad de cada periodo de tiempo (12 horas, 6 horas, 3 horas y 1 hora). Tras finalizar el proceso de descelularización, los órganos se almacenaron en condiciones particulares dependiendo del tipo de análisis al que se sometió. Los órganos experimentales que fueron usados para el análisis histológico (Hematoxilina y Eosina, Tricrómica de Masson), fueron almacenados en paraformaldehído al 4%. Los órganos experimentales que fueron usados para la cuantificación de DNA, fueron almacenados congelados a -20° C.

### **7.3 Descelularización de parches Cardiacos**

La extracción de corazón para parches cardiacos, se realizó siguiendo los mismos pasos de sacrificio de las ratas para la descelularización de órganos completos, una vez realizada la extracción de los corazones fueron sometidos al proceso de crioprotección, para la cual los corazones son sometidos a un tren de sacarosa de 15%, 20% y 30% a temperatura de 4° C. Las soluciones de sacarosa se prepararon usando 3 gramos de sacarosa, aforados a 20 ml de agua tridestilada para la solución de sacarosa al 15%, 4 gramos de sacarosa, aforados a 20 ml de agua tridestilada para la solución de sacarosa al 20%, y 6 gramos, aforados a 20 ml de agua tridestilada para la solución de sacarosa al 30%. La duración del corazón en cada paso es variada, la duración depende del tiempo en que se de la precipitación del órgano. El corazón se coloca en la solución al 15% después de que éste se precipita, se traspasa a la solución al 20% hasta que vuelva a precipitar, para ser pasado finalmente a la solución al 30% para nuevamente precipite. **Anexo 2.** Crioprotección de corazón de rata Wistar en sacarosa, es almacenado en solución de PBS a una temperatura no mayor de 4° sin congelación. Una vez crioprotegidos los corazones, se procede a la realización de cortes de 200 micras de grosor en un crióstato, congelando los corazones por medio de hielo seco **Anexo 3.** Cortes de Parches Cardiacos de Rata Wistar.

Una vez realizados los cortes se procede con la descelularización, para lo cual los parches se colocaron en 35 ml de SDS al 2%, en tubos para centrifuga de 50 ml de capacidad,

dichos tubos se colocaron en un agitador a 126 rpm **Anexo 4.** Preparación de Descelularización de Parches Cardiacos. El tiempo de agitación fue constante, se realizó cambios de solución (SDS al 2%) cada 24 horas, los puntos de corte para la toma de resultados a las 24 horas, 48 horas, 72 horas y 96 horas **Anexo 5.** Parches Cardiacos descelularizados. Una vez sometidos al proceso de descelularización en los distintos cortes de tiempo se almacenaron en paraformaldehído al 4% para los posteriores análisis histológicos y otras muestras se congelaron en seco a -20°C para posteriores análisis de cuantificaciones de DNA.

## **7.4 Análisis de la Matriz Extracelular**

### **7.4.1 Tinciones histológicas**

Para determinar el porcentaje de eliminación celular derivado de la descelularización, se evaluará por microscopía óptica, procesando las imágenes de las tinciones histológicas teñidas con hematoxilina y eosina (H-E) por medio del conteo de núcleos, y por medio de la Tricrómica de Masson, se analizaron las fibras de colágeno de la MEC.

#### **7.4.1.1 Procesamiento de las muestras histológicas con H-E y Tricrómica de Masson**

Los órganos y los parches cardiacos se mantuvieron en paraformaldehído al 4% a temperatura ambiente, la preparación de la muestra para la inclusión en parafina se realizó en el deshidratador de muestras automatizado Leica TP1020. Una vez deshidratada, la muestra fue colocada en parafina, acomodando el órgano en un molde de inclusión donde se vertió parafina líquida, utilizando el incluidor Leica EG1160. Los órganos y los parches cardiacos se orientaron en el histocasette, se completó el llenado con parafina líquida hasta conformar un bloque sólido. Después de ser solidificada la parafina, se montaron las muestras en el microtomo Leica RM2135, realizando cortes histológicos de 5µm de grosor. Los cortes histológicos de Hematoxilina-eosina y Tricrómica de Masson se montaron en portaobjetos, con ayuda de una estufa de baño maría. Para desparafinar las tinciones se colocaron las muestras en una incubadora durante 4 horas a una temperatura de 45°C. Posteriormente, en la campana de flujo laminar se realizó la hidratación de las muestras a

través de un tren de alcoholes y posteriormente, se colocaron en el tren de tinciones específico de Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Masson, dependiendo de la muestra.

Al finalizar las tinciones, las muestras fueron fijadas con dos gotas del medio de montaje, se colocó un cubreobjetos y evitando la formación de burbujas. Las tinciones histológicas de hematoxilina-eosina y Tricrómica de Masson fueron observadas de forma preliminar en un microscopio Leica ICC50 **Anexo 6. Toma de Micrografías (A).** La toma de las micrografías de las tinciones se realizó en un microscopio Leica DM 500 **Anexo 6. Toma de Micrografías (B),** las observaciones y micrografías se realizaron con aumentos de 4X, 10X, 40X para la realización del conteo de celular.

## VIII) ASPECTOS BIOÉTICOS

### 8.1 Generalidades de bioética

La presente tesis sustentó sus resultados en el uso de animales de experimentación (ratas Wistar *Ratus norvegicus*), el manejo bioético de dichos organismos se basó en los lineamientos comprendidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, donde se estipula la categoría de experimentación en función de las actividades experimentales de acuerdo al grado de invasión, molestia o daño producido sobre los animales de laboratorio, en vista de que el experimento realizado para la presente tesis generó la muerte de los animales de experimentación, se clasificó en tipo A “Experimentos utilizando invertebrados de baja escala: Uso de huevos, protozoarios u otros organismos unicelulares. Uso de metazoarios. Uso de cultivo de tejidos u órganos obtenidos después del sacrificio del animal en el rastro o necropsia” (SEGOB, 2001). Los procesos de sacrificio de los animales, se realizó tras una correcta anestesia de los mismos, y una posterior verificación de esta, dicha verificación consistió en someter a las ratas a estímulos dolorosos en la cola, y de este modo se evitó el sufrimiento innecesario de los animales.

### 8.2 Dictamen de Comité de Bioética institucional

La presente se basa en el protocolo de investigación el cual cuenta con un dictamen aprobatorio por parte del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Queretano, con fecha de 12 de mayo de 2022 **Anexo 7:** Carta de Dictamen del Comité de Bioética, mismo que posteriormente fue registrado ante la dirección de posgrado e investigación de esta casa de estudios **Anexo 8.** Registro de protocolo de investigación.

## IX) RESULTADOS

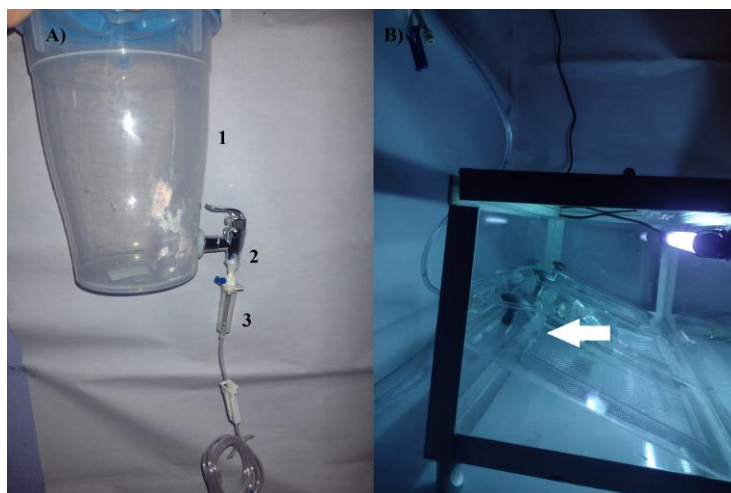
### 9.1 Diseño y creación del prototipo Multi-descelularizador-UV

El prototipo está conformado de: Sistema de perfusión; Cama de descelularización; Cámara de descelularización; Fuente de luz ultravioleta (UV); Sistema de drenaje.



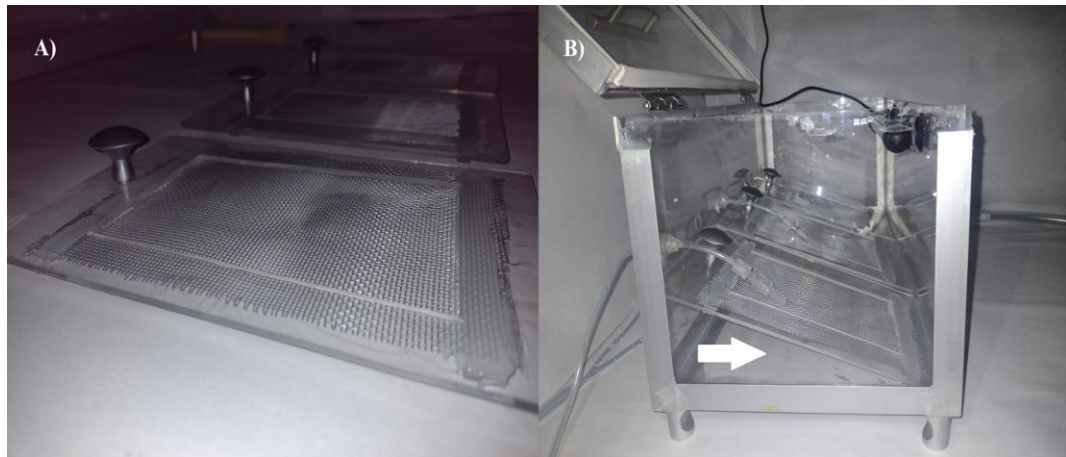
**Figura 11. Prototipo de Multi-descelularizador-UV.** Prototipo de Multi-descelularizador-UV. **A)** Muestra el prototipo con la fuente de luz UV apagada; **B)** Luz UV encendida; 1) Sistema de perfusión; 2) Cámara de descelularizado; 3) Camas de descelularizado; 4) Sistema de drenaje; 5) Fuente de Luz UV. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

**Sistema de perfusión;** Contenedor de plástico transparente de 4 litros de capacidad, con una llave válvula de cuerda de plástico, en un lateral inferior, unida a equipo de venoclisis tipo normogotero y este a llave de tres vías con extensión, el cual ingresa por el orificio de la parte posterior de la cámara de descelularizado hasta la cama de descelularización.



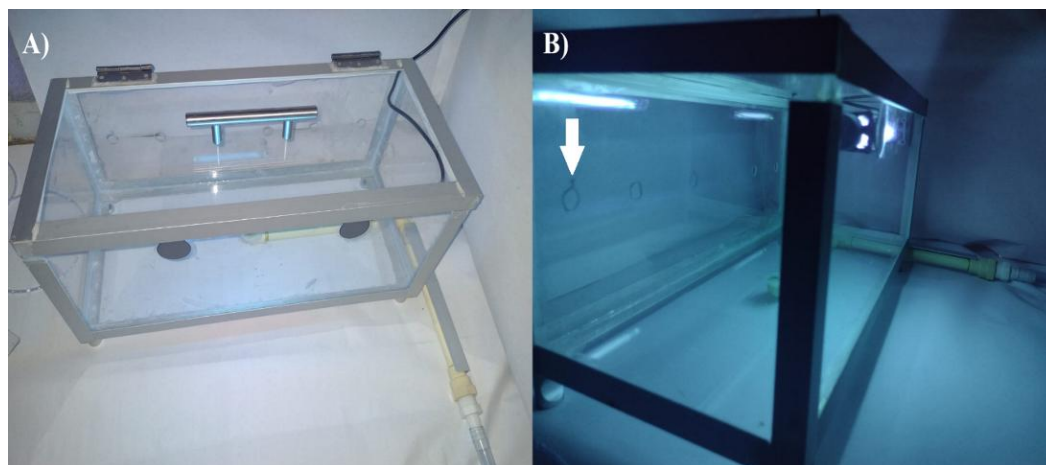
**Figura 12. Sistema de perfusión.** A) sistema de drenaje de la cámara de descclularizado, donde: 1) Contenedor de plástico; 2) Llave válvula 3) Equipo de venoclisis tipo normogotero. B) Sistema de drenaje dentro de cámara de descclularizado, la flecha blanca señala el nivel del sistema de perfusión. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

**Cama de descclularización:** La cama de descclularización se fabricó en tres tantos, dichas camas son montables en la cámara de descclularización. Rectángulos de 21 cm de alto por 14 cm de ancho de acrílico transparente, de 5 mm, con un orificio rectangular interno de 14 cm de largo por 9 cm de ancho, con una malla de plástico en dicha área de las mismas dimensiones, en la parte superior de la cama tiene una jaladera tipo botón con 3.5cm de diámetro.



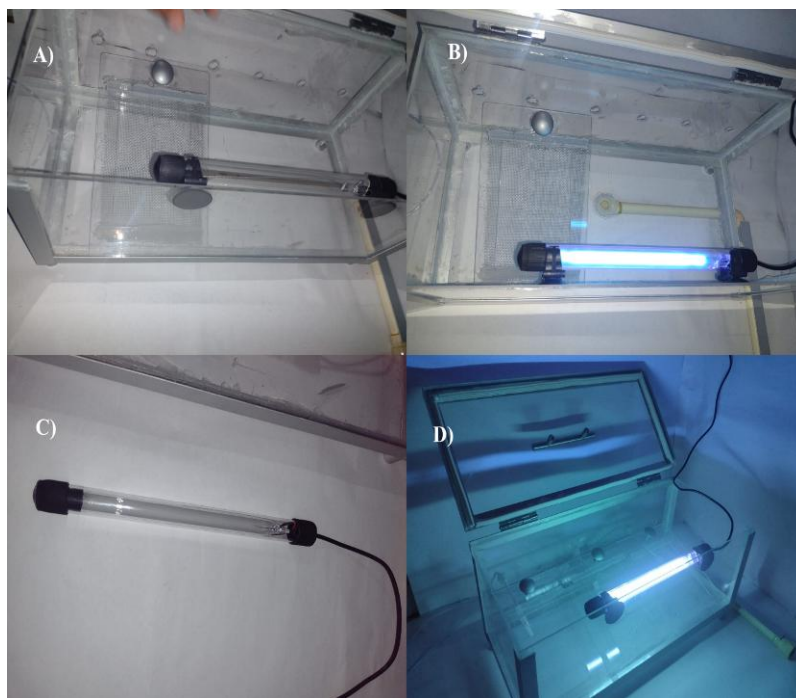
**Figura 13. Cama de descelularización.** A) Cama individual de descelularizado; B) Camas de descelularización colocadas dentro de la cámara de descelularización, la flecha blanca señala el ángulo de inclinación de la cama de descelularizado. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

**Cámara de descelularización:** La cámara de descelularizado tiene una forma de prisma rectangular, en acrílico transparente de 5 mm de espesor, una base de 34 cm por 20 cm, con una altura de 18 cm, con seis orificios en la cara posterior con un diámetro de 1.5 cm cada uno, en la cara anterior presentan dos ventosas de plástico, para sujetar la fuente de luz UV, en la parte superior presenta una tapa movable con bisagras del mismo material con las medidas de la base, y un asa de aluminio. En el centro de la base se encuentra un orificio de  $\frac{1}{2}$  pulgada, que conecta con el sistema de drenaje. La cámara de descelularización presente un refuerzo en las todas las aristas incluidas las de la tapa, hecho de ángulo de aluminio de 2 cm. La base de la cama de descelularización tiene en cada vértice un tope de aluminio, para darle más altura a la base y espacio para el sistema de drenaje.



**Figura 14. Diseño Cámara de descelularización.** A) Vista superior de la cámara de descelularizado. B) Vista lateral de la cámara de descelularizado, con fuente UV encendida, la flecha blanca señala uno de seis orificios, donde entra la parte terminal del sistema de perfusión. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

**Fuente de luz ultravioleta (UV):** Lámpara cilíndrica horizontal de cristal de cuarzo con 25 cm de longitud, la potencia de esta es de 11W de potencia, la longitud de onda de 254 nm (Luz Ultravioleta de tipo LUV-C/UVC), con un alcance de 1 metro.

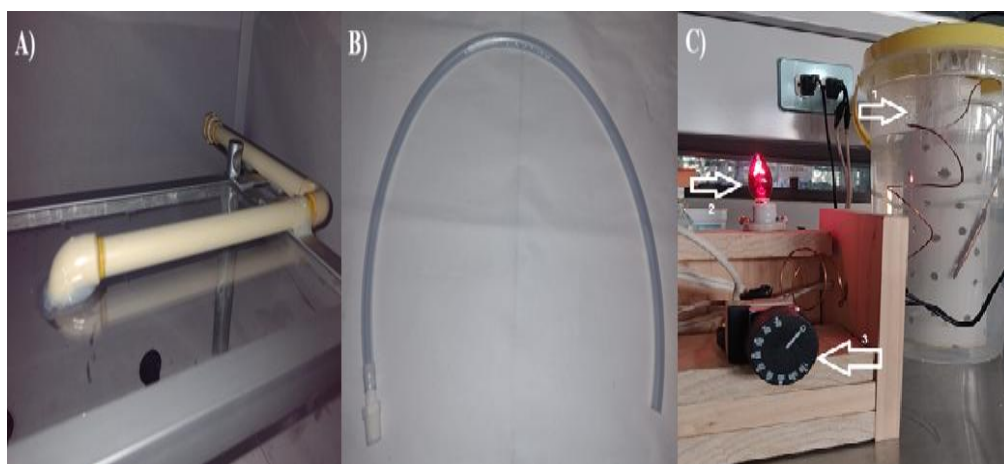


**Figura 15. Fuente de luz ultravioleta (UV).** Vista de distintos ángulos de la ubicación de la fuente de luz UV, las flechas blancas la señalan. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

**Sistema de drenaje:** Tubo de CPVC de  $\frac{1}{2}$  pulgada de diámetro, en forma de “L”, con las medidas de 23 cm por 25 cm, unido con un codo de CPVC al orificio en la base de la cámara de descelularizado, en la parte final de la “L” tiene un conector hembra de CPVC de  $\frac{1}{2}$  pulgada. El sistema de drenaje en “L” está fijado a la parte inferior de la base de la cámara de descelularización. El sistema de drenaje tiene una parte montable que se une al conector hembra por medio de conector macho de CPVC de  $\frac{1}{2}$  pulgada de diámetro, unido a una manguera industrial transparente de  $\frac{1}{2}$  pulgada de diámetro de una longitud de 1 metro.

**Sistema de calentado de soluciones:** Formado de una cubeta de plástico rígido transparente de 7 litros de capacidad, con un tubo de CPVC de 2.5 pulgadas de diámetro, con múltiples orificios único a la base interna de la cubeta en ángulo de  $90^\circ$ , presente un

orificio en la tapadera de la cubeta por el cual ingresa una resistencia de agua de 11W, la cubeta en los laterales de la cubeta en la parte superior dos orificios por los cuales ingresan las líneas del sistema de perfusión. La resistencia se encuentra conectada a un termostato que lo enciende razón de la temperatura indicada en el mismo, conectado en paralelo a una luz roja que se enciende al mismo tiempo que la resistencia se encuentra encendida, unida a una base de madera que da base para la luz, y el termostato, de dicha base sale un cable conector hacia el tomacorriente. El sistema usa agua del grifo para calentar las soluciones.



**Figura 16. Anexo del dispositivo.** **A)** Sistema de drenaje: Vista lateral del tubo de CPVC unido a la parte inferior de la cama de descelularizado. **B)** Manguera del sistema de drenaje: Se observa la manguera de ½ pulgada de diámetro, que se conecta a la “L” de tubo, para completar el sistema de drenaje. **C)** Sistema de calentamiento de soluciones. 1) Recipiente donde se calientan las soluciones mediante resistencia eléctrica y control térmico por termostato; 2) Foco de aviso de encendido de la resistencia; 3) Termostato. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

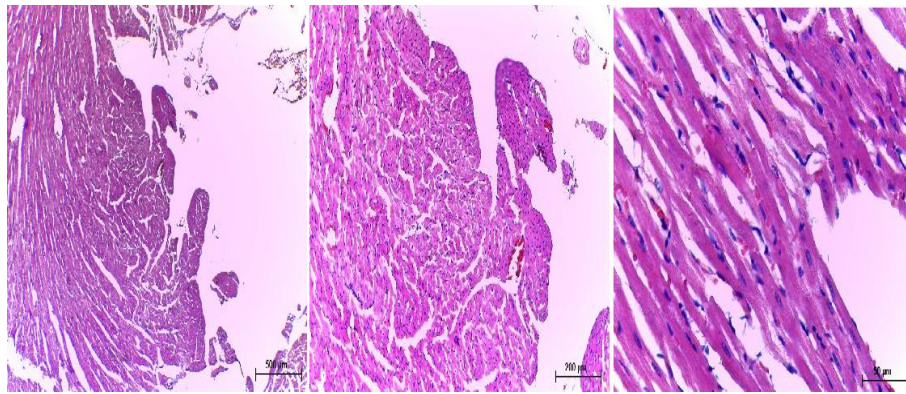
## 9.2 Resultados órgano control

Se analizó el corazón de rata Wistar por triplicado de forma macroscópica, donde se pudieron observar características morfológicas iguales, con una coloración rojiza y coloración azul-morado en el vaso de la aorta.

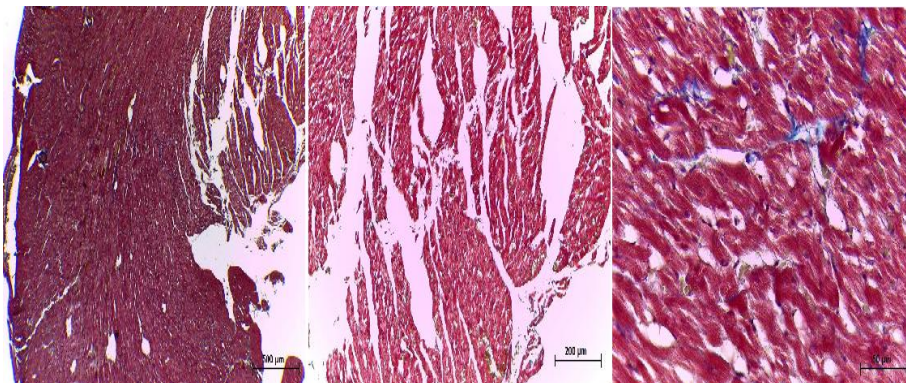


**Figura 17. Corazón Control de Rata Wistar.** Se muestran los 3 corazones de rata Wistar empelados en las tinciones de órgano control en HE y Tricrómica de Masson. **Fuente:** Hernández-Carrillo, Diego A., 2022.

| Tabla 2. Métrica Orgánica de Corazón Control de Rata Wistar |                   |                   |                   |          |
|-------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------|
| Parámetro                                                   | Corazón Control A | Corazón Control B | Corazón Control C | Promedio |
| <b>Masa</b>                                                 |                   |                   |                   |          |
| <b>(Gramos)</b>                                             | 1.8g.             | 1.71g.            | 1.75g.            | 1.75g.   |
| <b>Longitud</b>                                             |                   |                   |                   |          |
| <b>Cardiaca</b>                                             |                   |                   |                   |          |
| <b>(centímetros)</b>                                        | 2.5 cm            | 2cm               | 2.1cm             | 2.2cm    |
| <b>Anchura</b>                                              |                   |                   |                   |          |
| <b>Cardiaca</b>                                             |                   |                   |                   |          |
| <b>(centímetros)</b>                                        | 1.3 cm            | 1.1cm             | 1.2cm             | 1.2cm    |
| <b>Espesor</b>                                              |                   |                   |                   |          |
| <b>Cardiaco</b>                                             |                   |                   |                   |          |
| <b>(centímetros)</b>                                        | 1 cm              | 0.8cm             | 0.9cm             | 0.9cm    |
| Fuente: Hernández-Carrillo, Diego A., 2022.                 |                   |                   |                   |          |

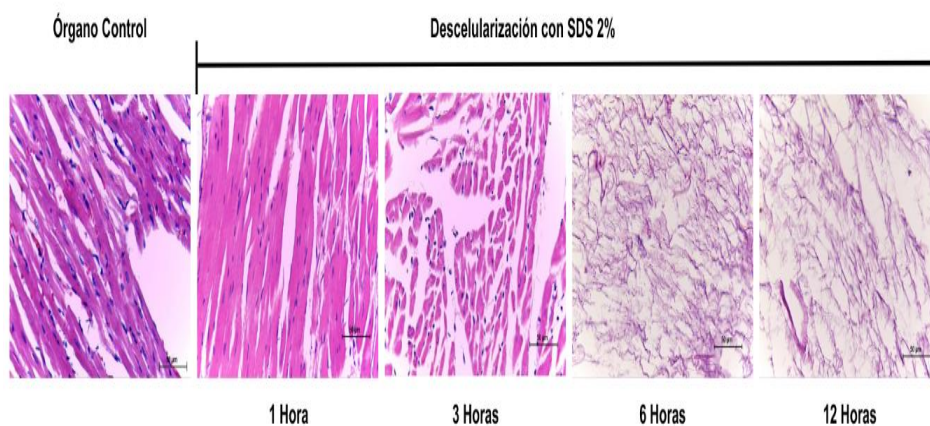


**Figura 18. Tinción con HE de Corazón Control.** Cortes de ventrículo izquierdo de Rata Wistar teñidos con HE de 5 micras de espesor. **A)** Corte histológico visto a 4 X. **B)** Corte histológico visto a 10 X. **C)** Corte histológico visto a 40 X. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

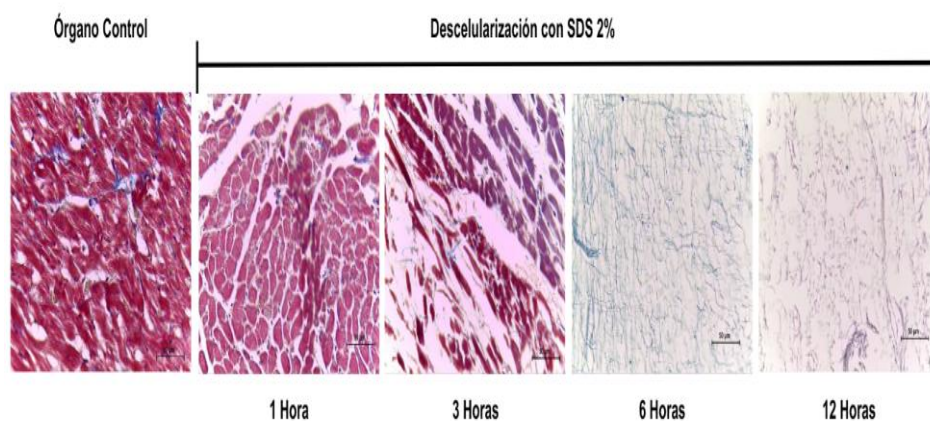


**Figura 19. Tinción para fibras de colágeno en el corazón control.** Tinción Tricrómica de Masson en rebanadas de 5 micras de espesor en ventrículo izquierdo de rata Wistar. **A)** Corte histológico visto a 4 X. **B)** Corte histológico visto a 10 X. **C)** Corte histológico visto a 40 X. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.

### 9.3 Resultados órgano Experimental Descelularizado

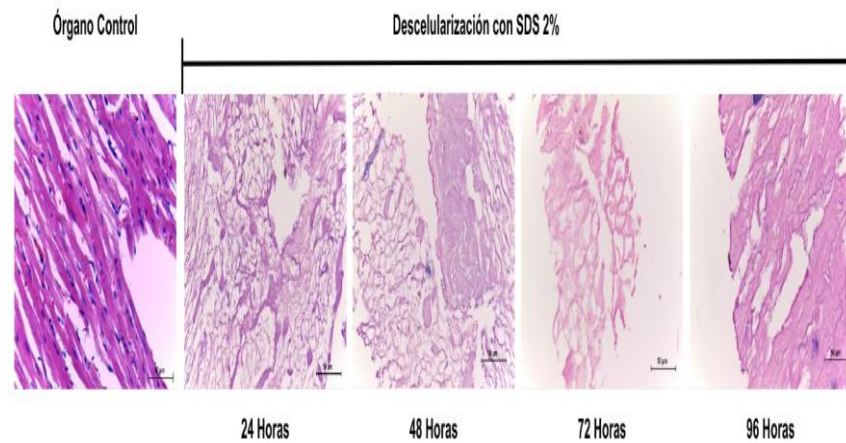


**Figura 20. Time-lapse de descelularización cardíaca.** Micrografías teñidas con HE en cortes de 5 micras de espesor que muestran el proceso de descelularización con SDS al 2%. La perfusión se realizó a 37°C, observando disminución progresiva del número de células en relación al tiempo de lavado. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.

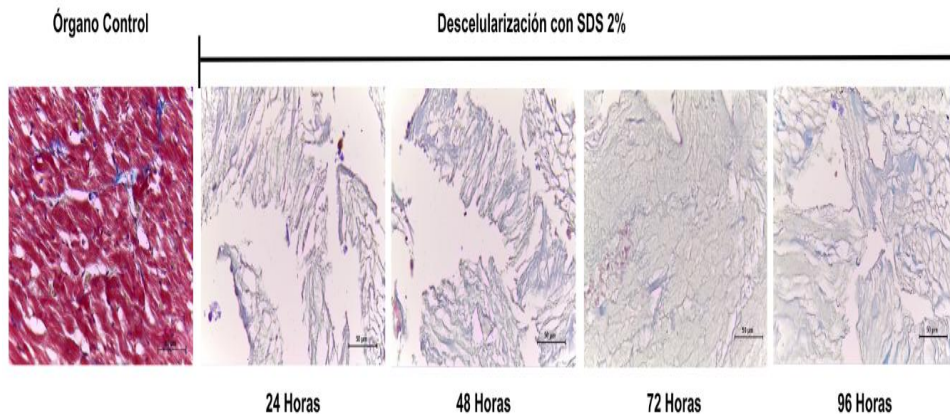


**Figura 21. Fibras de colágeno en el proceso de descelularización.** Las micrografías muestran cortes descelularizados teñidos con tinción Tricrómica de Masson en cortes de 5 micras de espesor, durante el proceso de descelularización con SDS al 2%. Paulatinamente, son más visibles las fibras de colágeno conforme avanza el proceso. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.

#### 9.4 Resultados Parches Cardiacos Descelularizados

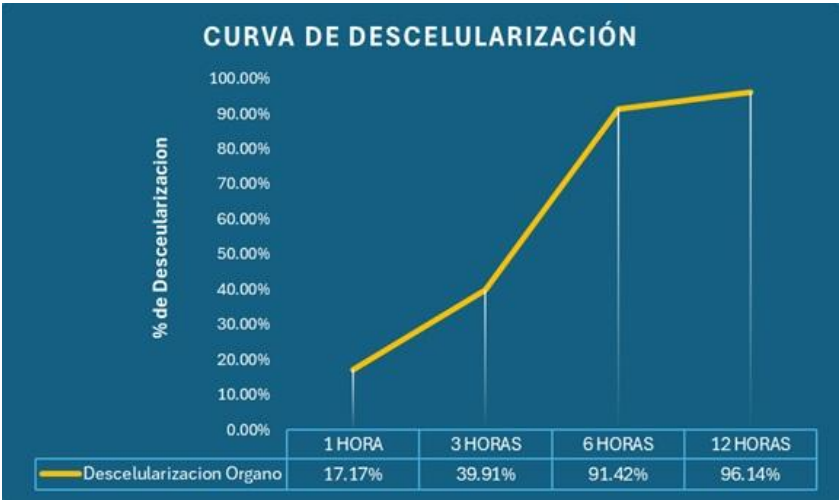


**Figura 22. Descelularización en parches cardíacos.** Las micrografías muestran cortes de 200 micras de parches de tejido cardíaco, teñidos con HE. La secuencia muestra el avance del proceso de descelularización con SDS al 2%, en agitación constante y a temperatura ambiente. A partir de las 3 horas se visualiza la disminución del número de células cardíacas. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.

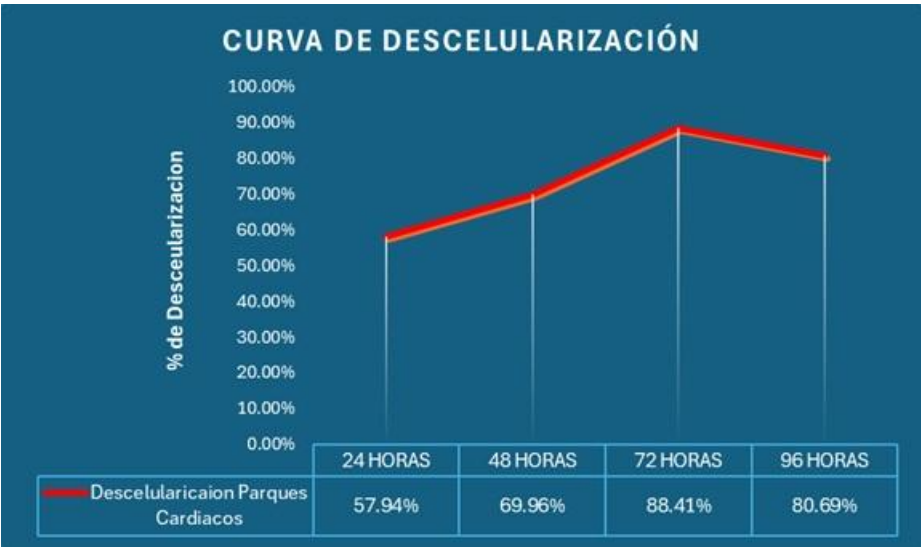


**Figura 23. Fibras de colágeno en parches cardiacos descelularizados.** Micrografías de cortes de 200 micras de espesor, teñidas con Tricrómica de Masson de durante el proceso de descelularización. Los parches de tejido cardíaco fueron tratados con SDS al 2%, con agitación constante y a temperatura ambiente. Se observa que las fibras de colágeno se preservan. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.

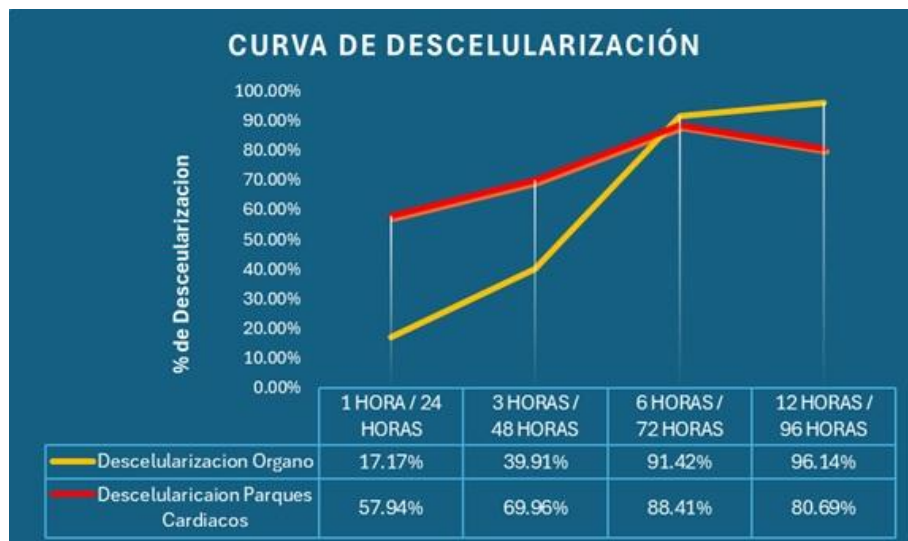
9.5 Resultados en Conteo Celular



**Figura 24. Curva de descelerización cardíaca.** La gráfica muestra el aumento del porcentaje de descelerización de corazón de rata Wistar macho conforme pasa el tiempo, tratadas con SDS al 2%, a 37° C, teñidos con HE. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Figura 25. Curva de descelerización de parches cardiacos.** La gráfica muestra el aumento del porcentaje de descelerización en parches cardiacos conforme pasa el tiempo, tratados con SDS al 2% a 37° C, teñidos con HE. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Fuente 26. Comparación de la descellularización de órgano completo y parches cardiacos.** Gráfica comparativa del porcentaje de descellularización de corazón completo y parches cardíacos en relación con el tiempo de lavado, tratados con SDS al 2%, teñidos con HE. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.

## 9.6 Divulgación

Se ha participado en algunos seminarios, foros y coloquios donde se ha obtenido constancia de participación **Anexo 9**. Constancia como potente Foro de Investigación, **Anexo 10**. Constancia como potente en el Segundo coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular, mayo 2022, **Anexo 11**. Constancia como potente en el Tercer Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular mayo 2023, así mismo se logró obtener el 3er lugar en el tercer coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular mayo 2023 en la categoría nivel maestría, **Anexo 12**. Reconocimiento de 3er lugar en el Tercer Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular mayo 2023. Se realizó una publicación en una revista de divulgación científica divulgación bajo el título de Descelularización de órganos: posible solución a la demanda de órganos, publicado en una revista indexada titulada Sin Contraseñas con ISSN:2992-8702, n° 7, pag 14-18 de la Universidad Virtual del estado de Michoacán **Anexo 13**. Artículo de divulgación “Descelularización de órganos: posible solución a la demanda de órganos”.

## **X) DISCUSIÓN**

En actualidad, no existe una definición universal para describir plenamente el proceso de descelularización, la principal razón de esto es en gran medida a la gran variedad de técnicas y métodos para la descelularización, en especial la descelularización de órganos completos (Isidan et al., 2019). Por tal motivo, es fundamental continuar con la investigación relacionada con estos procesos.

Dependiendo del tipo de órgano que será sometido a la descelularización se debe considerar un protocolo específico que busque que la MEC no presente componentes nucleares (Crapo et al., 2011), sino que también mantenga una microanatomía del órgano tratado, para lo cual es fundamental la descelularización por perfusión controlada por presión o flujo (Hillebrandt et al., 2019). Para los procesos de descelularización de órganos completos se requiere el uso de varios tipos de técnicas y métodos descelularización para lograr un correcto proceso el cual dependerá del tipo de tejido que se pretende someter a la descelularización (Mendibil et al., 2020).

El presente trabajo tomando en consideración las ventajas y desventajas de los distintos métodos de descelularización (Mendibil et al., 2020). Se aplicó la combinación de tres tipos de métodos de descelularización físicos (congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$ ), químico-enzimático (lado con tripsina con EDTA al 0.025%, lavado con SDS al 2%), para la descelularización de órganos completos, por medio de un proceso de perfusión controlado.

En el presente protocolo de descelularización de corazón de rata Wistar macho se perfundieron las distintas soluciones a una temperatura controlada fisiológica de  $37^{\circ}\text{C}$ , se obtuvo una descelularización del 91.42% en 6 horas y 96.14% en 12 horas en contraste en tiempo con otros reportes (Torres-Osornio, 2020), donde se emplearon los mismo tipos de descelularización pero sin una temperatura de perfusión controlada donde obtuvo entre 90.83% y 97.49% de descelularización en un tiempo promedio de 36 horas.

En el presente trabajo se realizaron otros protocolos de descelularización con la finalidad comparar tiempo y porcentajes de descelularización, siendo estos la descelularización de

parches cardiacos de 200 micras de grosor en un crióstato previamente crioprotegidos con distintas concentraciones de sacarosa (15%, 20% y 30% a temperatura de 4° C), empleando métodos químicos como el SDS al 2% y métodos físicos, al realizar lavados en SDS al 2% un agitador a 126 rpm en intervalos de 24 horas, 48 horas, 72 horas y 96 horas.

El uso de sacarosa como agente crioprotector se emplea debido a que la sacarosa es un agente crioprotector de tipo no penetrante, en razón que es una sustancia con un alto peso molecular que permite una rápida deshidratación celular, ya que se forman puentes de hidrógeno con el agua, lo que reduce la actividad de esta, es decir que no sigue la ley de Raoult, permitiendo una congelación rápida de tejidos sin dañarlos (Ávila-Portillo et al., 2006).

Los parches cardiacos son ampliamente utilizados en términos clínicos, ya que los mismos permiten una opción terapéutica de enfermedades cardiovasculares complejas como el infarto agudo a miocardio o insuficiencia cardíaca entre los principales tipos de parches cardiacos están los de hidrogel, los cuales pueden estar fabricados de MEC descelularizada entre otros materiales (Liu et al., 2024).

En la descelularización de parches cardiacos existen una gran gama de técnicas y métodos de descelularización, donde se usan agentes como SDS, EDTA, Tripton X-100, Tripsina, ADNasa, con distintos niveles de concentración, aplicados a tejidos cardiacos de distintos organismos (porcino, ovino y roedores), con una gran variedad de resultados (Akbarzadeh et al., 2023).

En el presente trabajo se emplearon cortes de 200 micras para la experimentación de descelularización de parches cardiacos, espesor similar en a los parches cardiacos experimentado 300 micras de espesor descelularizados con SDS y Triton X-100 de (Blazeski et al., 2015). Respecto a la descelularización de parches cardiacos de rata Wistar, no se empleó la combinación de distintos agentes químicos sino solamente se empleó SDS al 2%, debido a su alta eficiencia en términos de descelularización, así como la capacidad para perseverar las características físicos-químicas de la funcionalidad de la MEC resultante, a pesar de grandes espesores de tejidos, como lo demostraron los resultados

obtenidos en los experimentos de descelularización de parches cardíacos de origen porcino de 2000 micras con SDS (Ye et al., 2016).

La descelularización de parches cardíacos en SDS al 2% es ampliamente usada, al obtener los resultados en porcentaje de descelularización a 72 horas de agitación fue de 88.41% y mientras que el porcentaje de descelularización a las 96 horas fue de 80.96%, lo cual es inconstante con los principios de descelularización por medio de agitación. Teóricamente, a mayor tiempo de agitación se genera una mayor descelularización, lo cual sugiere la posibilidad que el tipo de agitador utilizado para la descelularización de parches no es el más adecuado. En la industria de laboratorios existen agitadores más complejos en la dinámica de flujo que generan, por tal motivo sería prudente en investigaciones futuras realizar la descelularización de parches cardíacos con las mismas metodologías, con diversos tipos de agitadores. La determinación del porcentaje de descelularización solo se pudo obtener por conteo de núcleos celulares en tinciones de HE, mientras que en la literatura se menciona la contabilización de núcleos celulares no solo por este medio sino también por DAPI, así mismo la cuantificación de DNA (Crapo et al., 2011). En este sentido sería prudente que, en investigaciones futuras, se realizara nuevamente el experimento tanto en descelularización del órgano completo como de parche cardíacos y complementar la obtención de resultados de porcentaje de descelularización tanto de por conteo de núcleo celular en DAPI como con cuantificación de DNA, para determinar por comprobación de otros métodos el porcentaje de descelularización.

## **XI) CONCLUSIONES**

El dispositivo diseñado y creado, permite controlar la temperatura de las soluciones para mantener una temperatura constante durante todo el proceso de descelularización (37° C). El uso de los detergentes (SDS al 2%) a una temperatura de 37° C, en el proceso de descelularización se alcanzó una descelularización aceptable desde las 6 horas de haber iniciado el lavado con un porcentaje de 91.42% y un 96.14% a las 12 horas, porcentaje que se obtuvo comparado el conteo de núcleos promedio del grupo órgano control. La descelularización de los parches cardiacos por medio de agitación alcanzó su mayor eficiencia a las 72 horas, con un porcentaje de descelularización de 88.41% siendo menor su eficiencia en comparación con el método de descelularización por medio de perfusión a temperatura controlada (37° C), así mismo el tiempo de descelularización es superior en el método de descelularización de parches que el método de descelularización por perfusión a temperatura controlada, lo cual es una clara mejoría en términos de eficiencia.

## XII) BIBLIOGRAFÍA

- Akbarzadeh, A., Sobhani, S., Soltani Khaboushan, A., & Kajbafzadeh, A. M. (2023). Whole-Heart Tissue Engineering and Cardiac Patches: Challenges and Promises. *Bioengineering*, 10(1), 106. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING10010106>
- Ávila-Portillo, L. M., Madero, J. I., López, C., León, M. F., Acosta, L., Gómez, C., Delgado, L. G., & Gómez, C. (2006). Fundamentos de criopreservación. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 57(4), 291–300. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74342006000400008&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342006000400008&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Barrett, K., Barman, S., & Brooks, H. (2020). Origen del latido cardiaco y de la actividad eléctrica del corazón. En J. Yuan (Ed.), *Ganong Fisiología médica* (26a ed.). McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=2954&sectionid=250433488>
- Beauduy, C., & Winston, L. (2019). Agentes antimicrobianos misceláneos; desinfectantes, antisépticos y esterilizantes. En B. Katzung (Ed.), *Farmacología básica y clínica* (14a ed.). McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2734&sectionid=228359793#1166477446>
- Beltrán, N. E., & González, C. H. (2016). Técnicas de cultivos celulares e ingeniería de tejidos. En Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Cuajimalpa. [http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/15Tecnicas\\_de\\_Cultivos\\_Celulares\\_e\\_Ingenieria\\_de\\_Tejidos.pdf](http://www.cua.uam.mx/pdfs/conoce/libroselec/15Tecnicas_de_Cultivos_Celulares_e_Ingenieria_de_Tejidos.pdf)
- Blazeski, A., Kostecki, G. M., & Tung, L. (2015). Engineered heart slices for electrophysiological and contractile studies. *Biomaterials*, 55(1), 119. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2015.03.026>
- Botham, K., & Murray, R. (2019). La matriz extracelular. En V. Rodwell, D. Bender, K. Botham, P. Kennelly, & P. Weil (Eds.), *Harper Bioquímica ilustrada* (31a ed.). McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=2743&sectionid=230148346>
- Cabre, L., & Masanes, F. (2020). Pacientes afectados de enfermedad terminal no oncológica, ¿Cuándo deben ingresar en la UCI? *Revista de Bioética y derecho Perspectivas Bioéticas*, 52, 5–16. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=zBZyEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA5&dq=enfermedades+organo+terminales&ots=Tho\\_D3Ty23&sig=P11rfGnOaRU-LrxGxcFC83F0RM#v=onepage&q=enfermedades%20organo%20terminales&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=zBZyEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA5&dq=enfermedades+organo+terminales&ots=Tho_D3Ty23&sig=P11rfGnOaRU-LrxGxcFC83F0RM#v=onepage&q=enfermedades%20organo%20terminales&f=false)

- Castro, N., Fernandes, M. M., Ribeiro, C., Correia, V., Minguez, R., & Lanceros-Méndez, S. (2020). Magnetic Bioreactor for Magneto-, Mechano- and Electroactive Tissue Engineering Strategies. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 20(12), 1–13.  
<https://doi.org/10.3390/S20123340>
- CENATRA. (2022a). Reporte Anual 2021 Receptores, Donación y Trasplantes en México.  
<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/692109/Anual2021.pdf>
- CENATRA. (2022b). Estado Actual de Receptores, Donación y Trasplantes en México 1er. Semestre 2022.  
<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/740777/1erSemestre2022.pdf>
- Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2016, Septiembre 18). Miscellaneous Inactivating Agents. *Infection Control*.  
<https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/disinfection-methods/miscellaneous.html>
- Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2021a, abril 19). Irradiación germicida ultravioleta superior (UVGI) . COVID-19. <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/community/ventilation/uvgi.html>
- Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2021b, junio 28). Radiación UV. National Center for Environmental Health.  
<https://www.cdc.gov/spanish/nceh/especiales/radiacionuv/index.html>
- Centro Nacional de Trasplantes [CENATRA]. (2021). Reporte anual 2020 de donación y trasplantes en México.  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/606061/Presentacion\\_anual\\_2020.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/606061/Presentacion_anual_2020.pdf)
- Colegio de Nefrólogos de México A.C. [CNMAC]. (2022, marzo 2). Día Mundial del Riñón 2022. Colegio de Nefrólogos de México A.C. <https://cnm.org.mx/dia-mundial-del-rinon-2022/>
- Crapo, P. M., Gilbert, T. W., & Badylak, S. F. (2011). An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*, 32(12), 3233–3243.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2011.01.057>
- Cunningham, F., Leveno, K., Dashe, J., Hoffman, B., & Spong, C. (2021). Embriogénesis y desarrollo fetal. En B. Casey (Ed.), *Williams Obstetricia* (26a ed.). McGraw Hill.  
<https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=3103&sectionid=259201424>
- Frías-Cienfuegos, L. (2022, marzo 14). Enfermedad Renal Crónica, problema de salud pública. *Gaceta UNAM*. <https://www.gaceta.unam.mx/enfermedad-renal-cronica-problema-de-salud-publica/>

- Gartner, L. (2021). Texto de histología: Atlas a color (5a ed.). Elsevier.  
[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=rVslEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=texto+de+histologia+atlas+a+color+gartner+5+ed&ots=q8zfgvqvck&sig=D2X-SblC8wswWq8jtAo2gMr9\\_ZU#v=onepage&q=texto%20de%20histologia%20atlas%20a%20color%20gartner%205%20ed&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=rVslEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=texto+de+histologia+atlas+a+color+gartner+5+ed&ots=q8zfgvqvck&sig=D2X-SblC8wswWq8jtAo2gMr9_ZU#v=onepage&q=texto%20de%20histologia%20atlas%20a%20color%20gartner%205%20ed&f=false)
- Garza, A. Q. (2019). Efectividad de dos métodos para la descelularización de arterias umbilicales [Universidad Autónoma de Nuevo León].  
<http://eprints.uanl.mx/17050/1/1080252185.pdf>
- Givertz, M., & Mehra, M. (2022). Insuficiencia cardíaca: fisiopatología y diagnóstico. En J. Loscalzo, A. Fauci, D. Kasper, S. Hauser, D. Longo, & J. Jameson (Eds.), *Harrison. Principios de Medicina Interna* (21a ed.). McGraw Hill Medical.  
<https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=3118&sectionid=267828713>
- Health Resources and Services Administration [HRSA]. (2022, marzo). Estadísticas sobre la donación de órganos. Estadísticas sobre la donación de órganos.  
<https://donaciondeorganos.gov/conocer/2n8u/estadisticas-sobre-la-donacion-de-organos>
- Hillebrandt, K. H., Everwien, H., Haep, N., Keshi, E., Pratschke, J., & Sauer, I. M. (2019). Strategies based on organ decellularization and recellularization. *Transplant International*, 32(6), 571–585. <https://doi.org/10.1111/TRI.13462>
- Instituto de Salud para el Bienestar [ISB]. (2022, marzo 10). Día Mundial del Riñón: 10 de marzo. <https://www.gob.mx/insabi/es/articulos/dia-mundial-del-rinon-10-de-marzo?idiom=es>
- Isidan, A., Liu, S., Li, P., Lashmet, M., Smith, L. J., Hara, H., Cooper, D. K. C., & Ekser, B. (2019). Decellularization methods for developing porcine corneal xenografts and future perspectives. *Xenotransplantation*, 26(6), e12564.  
<https://doi.org/10.1111/XEN.12564>
- Iwasa, J., & Marshall, W. (2020). Interacciones entre las células y su entorno. En *Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos* (8a ed.). McGraw Hill Medical.  
<https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=2817&sectionid=249682285>
- Liu, T., Hao, Y., Zhang, Z., Zhou, H., Peng, S., Zhang, D., Li, K., Chen, Y., & Chen, M. (2024). Advanced Cardiac Patches for the Treatment of Myocardial Infarction. *Circulation*, 149(25), 2002–2020.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.123.067097>

- Márquez Díaz, J. E. (2020). Tecnologías disruptivas como alternativa a la obtención de órganos y tejidos artificiales. *Revista Colombiana de Bioética*, 15(1).  
<https://doi.org/10.18270/RCB.V15I1.2624>
- Mascaro, J. (2022). Trasplante cardíaco: estado actual. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 33(3), 263–274. <https://doi.org/10.1016/J.RMCLC.2022.05.003>
- Mayo Clinic. (2021). Insuficiencia cardíaca: Síntomas y causas. Atención al paciente e información médica: Enfermedades y afecciones. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/heart-failure/symptoms-causes/syc-20373142>
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. (2019). La célula. Matriz extracelular. Glicoproteínas. *Atlas de Histología Vegetal y Animal*.  
[https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/2-componentes\\_glucoproteinas.php](https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/2-componentes_glucoproteinas.php)
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. (2022, agosto 2). Tipos celulares: Cardiomiocito. Tipos celulares. *Atlas de Histología Vegetal y Animal*.  
<https://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/cardiomiocito.php?tema=b>
- Mendibil, U., Ruiz-Hernandez, R., Retegi-Carrion, S., Garcia-Urquia, N., Olalde-Graells, B., & Abarrategi, A. (2020). Tissue-Specific Decellularization Methods: Rationale and Strategies to Achieve Regenerative Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 1–29. <https://doi.org/10.3390/IJMS21155447>
- Mousavi, M. S., Amoabediny, G., Mahfouzi, S. H., & Safiabadi Tali, S. H. (2021). Enhanced articular cartilage decellularization using a novel perfusion-based bioreactor method. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 119, 104511. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2021.104511>
- National Institute Cancer [NCI]. (2022). Definición de cardiopatía. *Diccionario de cáncer del NCI*. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/cardiopatia>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2021, agosto 25). Hipertensión: Datos y cifras. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
- Pérez-Salazar, S. K. (2020). Estandarización y evaluación del método para la descelularización de riñón de rata Wistar [Universidad Autónoma de Querétaro]. [http://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/2443/1/MEMAC-281483-1220-1228-Susan%20Karen%20P%c3%a9rez%20Salazar\\_compressed%20%20-A.pdf](http://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/2443/1/MEMAC-281483-1220-1228-Susan%20Karen%20P%c3%a9rez%20Salazar_compressed%20%20-A.pdf)
- Piña-Pozas, M., Araujo-Pulido, G., & Castillo-Castillo. (2020). Hipertensión arterial un problema de salud pública en México. Instituto Nacional de Salud Publica. <https://www.insp.mx/avisos/5398-hipertension-arterial-problema-salud-publica.html>

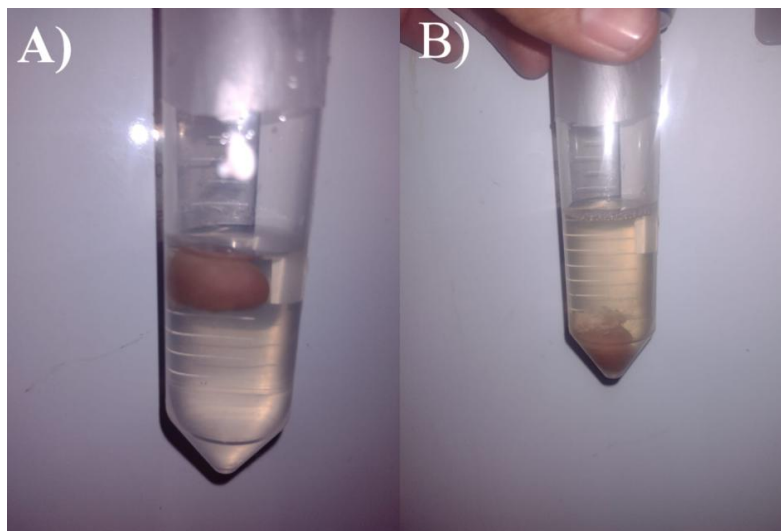
- Rabbani, M., Zakian, N., & Alimoradi, N. (2021). Contribution of Physical Methods in Decellularization of Animal Tissues. *Journal of Medical Signals and Sensors*, 11(1), 1. [https://doi.org/10.4103/JMSS.JMSS\\_2\\_20](https://doi.org/10.4103/JMSS.JMSS_2_20)
- Ross, M., & Pawlina, W. (2020). *Histología. Texto y atlas. Correlación con biología molecular y celular* (8a ed.). Wolters Kluwer.
- Ryan, K., & Sherris. (2021). Esterilización, desinfección y control de las infecciones. En K. Ryan (Ed.), *Microbiología médica* (7a ed.). McGraw Hill. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=3057&sectionid=255428199#1187890867>
- Ryan, K., & Sherris. (2022). Esterilización, desinfección y control de las infecciones. En K. Ryan (Ed.), *Microbiología médica* (8a ed.). McGraw Hill. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=3217&sectionid=268613073#1192354477>
- Saavedra, J., & Domínguez, A. (2014). Tejido muscular. En J. Saavedra & A. Domínguez (Eds.), *Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular* (2a ed.). McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=1506&sectionid=98182664>
- Saladin, K. S. (2022). Sistema circulatorio: Corazón. En *Anatomía y fisiología. La unidad entre forma y función* (9a ed.). McGraw Hill Medical. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=3137&sectionid=263134527>
- Sánchez-Cedillo, A., Cruz-Santiago, José, Mariño-Rojas, F. B., Hernández-Estrada, S., & García-Ramírez, C. (2020). Carga de la enfermedad: insuficiencia renal, diálisis-hemodiálisis y trasplante renal en México. Costo de la enfermedad. *Revista Mexicana de Trasplantes*, 9(1), 15–25. <https://doi.org/10.35366/94025>
- Sharma, P., Kumar, P., Sharma, R., Bhatt, V. D., & Dhot, P. S. (2019). Tissue Engineering; Current Status & Futuristic Scope. *Journal of Medicine and Life*, 12(3), 225. <https://doi.org/10.25122/JML-2019-0032>
- Song, Y., Zhang, F., & Linhardt, R. J. (2021). Analysis of the Glycosaminoglycan Chains of Proteoglycans. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 69(2), 121–135. [https://doi.org/10.1369/0022155420937154/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1369\\_0022155420937154-FIG2.JPEG](https://doi.org/10.1369/0022155420937154/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1369_0022155420937154-FIG2.JPEG)
- Tamargo, J., & Delpón, E. (2020). Generalidades del aparato cardiovascular: la célula cardíaca. En J. Fernández-Tresguerres (Ed.), *Fisiología humana* (5a ed.). McGraw Hill. <https://accessmedicina-mhmedical-com.e-revistas.ugto.mx/content.aspx?bookid=2987&sectionid=252839486>

- Torres-Osornio, A. (2020). *Establecimiento de una técnica de descelularización cardiaca en ratas Wistar mediante perfusión hidrostática* [Universidad Autónoma de Querétaro]. <https://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/2483/1/RI005543.pdf>
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2018). *Principios de anatomía y fisiología* (15a ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Tzanakakis, G., Neagu, M., Tsatsakis, A., & Nikitovic, D. (2019). Proteoglycans and immunobiology of cancer-therapeutic implications. *Frontiers in Immunology*, 10(APR), 875. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.00875/BIBTEX>
- Ye, X., Wang, H., Gong, W., Li, S., Li, H., Wang, Z., & Zhao, Q. (2016). Impact of decellularization on porcine myocardium as scaffold for tissue engineered heart tissue. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27(4), 1–8. <https://doi.org/10.1007/S10856-016-5683-8/METRICS>

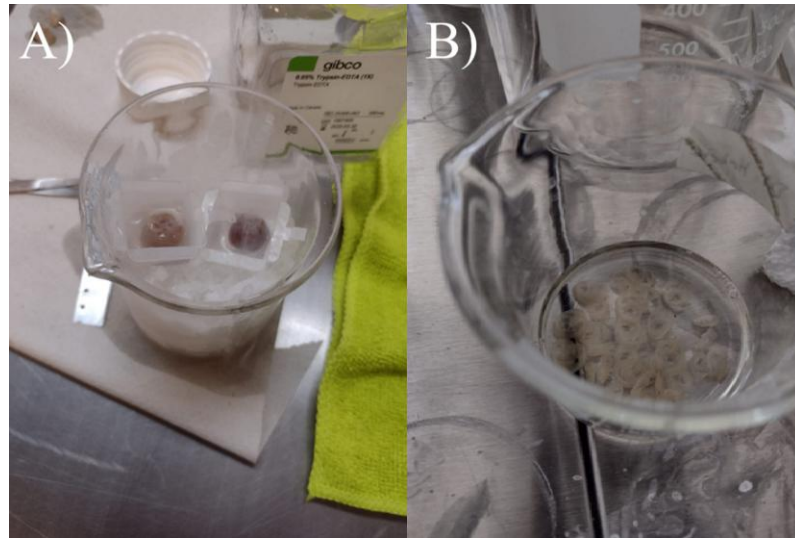
### XIII) ANEXOS



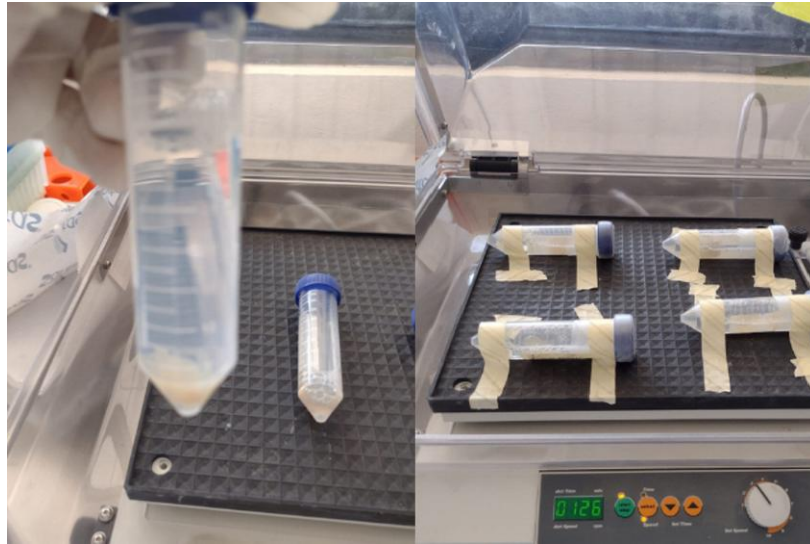
**Anexo 1. Manipulación de Ratas Wistar.** **A)** Ratas Wistar Macho. **B)** Verificación de sedación en Ratas Wistar. **C)** Realización de toracotomía en Rata Wistar. **D)** Extracción de corazón de Rata Wistar. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.



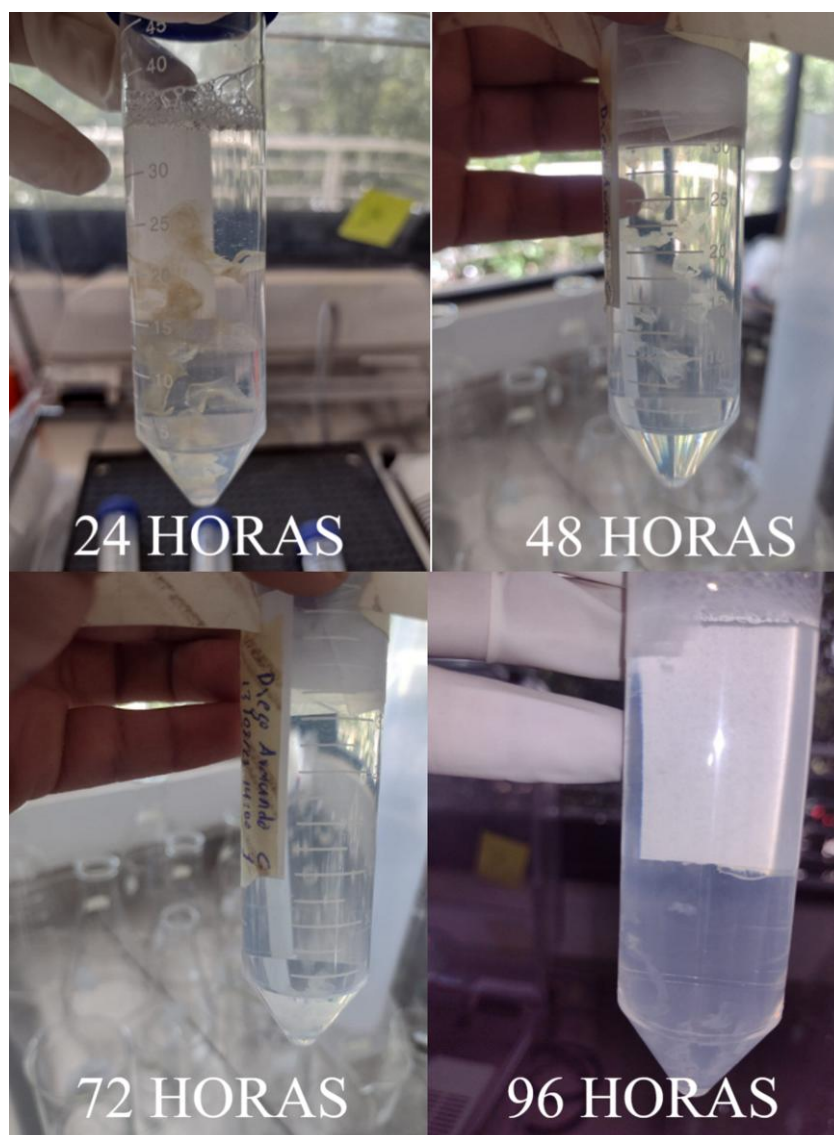
**Anexo 2. Crioprotección de Corazón de Rata Wistar en Sacarosa.** A) Corazón de Rata Wistar en proceso de crioprotección con agua tridestilada con Sacarosa antes de precipitar. B) Corazón de Rata Wistar en proceso de crioprotección con agua tridestilada con Sacarosa después de precipitar. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



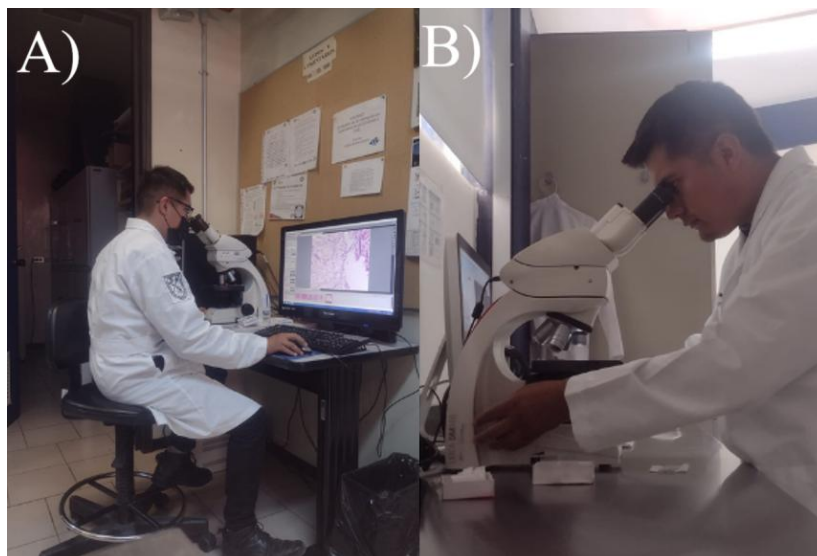
**Anexo 3. Cortes de Parches Cardiacos de Rata Wistar.** **A)** Corazones de Rata Wistar previamente crioprottegidos, siendo congelados con hielo seco. **B)** Cortes de corazón de Rata Wistar por criotomo con un grosor de 200 micras. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Anexo 4. Preparación de Descelularización de Parches Cardiacos.** A) Parches cardiacos de 200 micras en 35 ml de SDS al 2%, antes de ser descelularizados. B) Inicio de descelularización de Parches cardiacos en agitador a 126 rpm. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Anexo 5. Parches Cardiacos descelularizados.** **A)** Parches Cardiacos de Rata Wistar tras 24 horas en agitación con SDS al 2%. **B)** Parches Cardiacos de Rata Wistar tras 48 horas en agitación con SDS al 2%. **C)** Parches Cardiacos de Rata Wistar tras 72 horas en agitación con SDS al 2%. **D)** Parches Cardiacos de Rata Wistar tras 96 horas en agitación con SDS al 2% **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Anexo 6. Toma de Micrografías.** A) Uso de microscopio Leica en el instituto de neurobiología de la UNAM. B) Uso de microscopio Leica en la Facultad de Medicina de la UAQ. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE MEDICINA



Facultad de Medicina a 12 de mayo del 2022

Diego Armando Hernández Carrillo

Presente

Por medio de la presente le hacemos llegar las observaciones y recomendaciones al protocolo:

Desarrollo de una técnica de descellularización en bioreactor con baja presión para órganos densos, para la producción de matriz extracelular funcional para la recellularización.

Que ha turnado a este Comité de Bioética:

Cubre con requisitos

Con base en lo anterior el dictamen Correspondiente es de:

**APROBADO**

"EDUCO EN LA VERDAD Y EN EL HONOR"

"POR LA VIDA Y LA SALUD"

Dr. Carlos Francisco Sosa Ferreyra  
Presidente del Comité de Bioética  
Facultad de Medicina

Dra. Claudia Verónica Cabeza Cabrera  
Secretaria del Comité de Bioética  
Facultad de Medicina



**SOMOSUAQ**  
EDUCAR CRECER CONSOLIDAR

Clavel No. 200, Col. Pridos de la Capilla, Santiago de Querétaro, Qro. México C.P. 76170  
Tel. 01 (442) 192 12 73 y 01 (442) 192 12 00 Ext. 6200

**Anexo 7: Carta de Dictamen del Comité de Bioética.** Carta de Dictamen del Comité de Bioética, obtenida por la facultad de medicina de UAQ. Fuente: Hernández-Carrillo Diego A., 2022.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### Registro del Protocolo de Investigación del Estudiante de Posgrado

|                                                  |                                                       |              |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------|
| Trámite a realizar:                              | Nuevo registro ( X )                                  | Cambio (   ) |
| Fecha de Registro*:                              | 12 • NOVIEMBRE • 2024                                 |              |
| No. Registro de Proyecto*:                       | 15025                                                 |              |
| Fecha de inicio de proyecto: 1 de agosto de 2021 | Fecha de término de proyecto: 14 de diciembre de 2024 |              |

Espacio (\*) exclusivo para la Dirección de Investigación y Posgrado

**1. Datos del solicitante:**

No. de expediente: 309348

**Nombre:**  
Hernández Carrillo Diego Armando

|                  |                  |           |
|------------------|------------------|-----------|
| Apellido Paterno | Apellido Materno | Nombre(s) |
|                  |                  |           |

**Dirección:**  
Boulevard Posadas Ocampo # 37 San Cristóbal 38900

|                |            |                          |
|----------------|------------|--------------------------|
| Calle y número | Colonia    | C.P.                     |
| Guanajuato     | 4661059289 | diegoarmandohe@gmail.com |

|        |          |                    |
|--------|----------|--------------------|
| Estado | Teléfono | Correo electrónico |
|        |          |                    |



**2. Datos del proyecto:**

|                               |                                                                                                                                                                                 |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Facultad:                     | Facultad de Medicina                                                                                                                                                            |
| Programa:                     | Maestría en Ciencias en Biomedicina                                                                                                                                             |
| Tema específico del proyecto: | Desarrollo de una técnica de descellularización en biorreactor con baja presión para órganos densos, para la producción de matriz extracelular funcional para recellularización |

**3. Nombres y firmas de:**

|                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br><b>Dr. Hebert Luis Hernández Montiel</b><br>Director de Tesis | Co-director o Co-directora                                                                                                                                   | <br><b>Dr. Nicolás Camacho Calderón</b><br>Jefe de Investigación y Posgrado de la Facultad |
| <br><b>Diego Armando Hernández Carrillo</b><br>Alumno o Alumna    | <br><b>Dr. Rodrigo Miguel González Sánchez</b><br>Director de la Facultad | <br><b>Dr. Manuel Toledano Ayala</b><br>Director de Investigación, Innovación y Posgrado   |



**Anexo 8. Registro de protocolo de investigación.** Registro de protocolo de investigación, ante la Dirección de Investigación y Posgrado de la UAQ. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Anexo 9. Constancia como potente Foro de Investigación.** Constancia como potente Foro de Investigación de la Facultad de medicina de la UAQ. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**Anexo 10. Constancia como potente en el Segundo coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular Mayo 2022.** Constancia como potente en el Segundo Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular Mayo 2022 de la Facultad de medicina de la UAQ. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2022.



Secretaría de  
EDUCACIÓN  
A DISTANCIA  
E INNOVACIÓN  
EDUCATIVA

Maestría en Química Clínica Diagnóstica  
Maestría y Doctorado en Ciencias en Biomedicina  
Especialidad en Bioquímica Clínica  
Maestría en Ciencias en Neurometabolismo

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina y Facultad de Química

Otorgan el presente

## RECONOCIMIENTO

A:

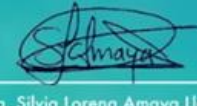
*DIEGO ARMANDO HERNÁNDEZ CARRILLO*

Por su destacada participación como ponentes del trabajo intitulado:

***DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE DESCELULARIZACIÓN EN  
PROTOTIPO DE DISPOSITIVO DESCELULARIZADOR CON BAJA  
PRESIÓN PARA ÓRGANOS DENSOS (CORAZÓN), PARA LA  
PRODUCCIÓN DE MATRIZ EXTRACELULAR.***

Presentado en el marco del Tercer Coloquio  
en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular.  
Realizado en Querétaro, Qro. el 11 y 12 de mayo del 2023.

  
Dra. Guadalupe Zaldívar Lelo de Larrea  
Directora de la Facultad de Medicina

  
Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Directora de la Facultad de Química

FOLIO: 0000790011000013

  
Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora de la Secretaría de Investigación,  
Innovación y Posgrado



**Anexo 11. Constancia como potente en el Tercer Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular Mayo 2023.** Constancia como potente en el Tercer Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular Mayo 2023 de la Facultad de medicina de la UAQ. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE MEDICINA Y FACULTAD DE QUÍMICA

Maestría en Química Clínica Diagnóstica  
Maestría y Doctorado en Ciencias en Biotecnología  
Especialidad en Bioquímica Clínica  
Maestría en Ciencias en Neuroendocrinología

Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Medicina y Facultad de Química

Otorgan el presente

## RECONOCIMIENTO

A:

**Hernández Carrillo  
Diego Armando**

Por haber obtenido el **3er lugar** en la categoría

**"Nivel Maestría, modalidad avance de resultados"**

con el trabajo intitulado:

**"Desarrollo de una técnica de descellularización en proto-  
tipo de dispositivo descellularizador con baja presión  
para órganos densos (corazón), para la producción de  
matriz extracelular".**

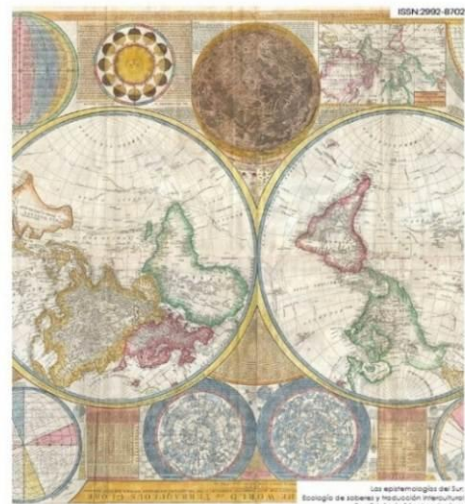
Presentado en el marco del Tercer Coloquio  
en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular.  
Realizado en Querétaro, Qro. el 11 y 12 de mayo del 2023.

Dra. Guadalupe Zaldívar Irujo de Llanos  
Directora de la Facultad de Medicina

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Directora de la Facultad de Química

Dra. Ma. Guadalupe Florio Llanos Pila  
Directora de la Secretaría de Investigación,  
Innovación y Progreso

**Anexo 12. Reconocimiento de 3er lugar en el Tercer Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular Mayo 2023.** Reconocimiento por haber obtenido el 3er lugar en el Tercer Coloquio en Ciencias Biomédicas y Diagnóstico Molecular Mayo 2023, en la categoría Nivel Maestría, modalidad avance de resultados de la Facultad de medicina de la UAQ. **Fuente:** Hernández-Carrillo Diego A., 2023.



**INNOVACIÓN**

**DESARROLLO**

**Demanda de órganos para trasplante**  
Tanto en México como en el mundo existe una gran necesidad de órganos para trasplantes. Dicha necesidad es derivada de las patologías de tipo órgano-terminal. Las patologías órgano-terminales corresponden a un gran número de patologías donde uno o más órganos son afectados de forma sustancial, de forma progresiva, hasta generar un daño total al órgano u órganos afectados, desencadenando la muerte. Este tipo de patologías terminales posee diferencias de las patologías terminales oncológicas, ya que sus procesos fisiopatológicos son diferentes. Entre este tipo de patologías se encuentran la insuficiencia cardíaca de tipo crónica, enfermedad renal crónica en su etapa terminal, insuficiencia hepática terminal de tipo no oncológico, etc.

En México, en materia de trasplantes, se supera la necesidad en comparación con los órganos disponibles, tanto provenientes de donaciones vivas como cadavéricas. En 2020 la necesidad de órganos se cubrió en corazón, hígado, riñón y, especialmente, riñón (Centro Nacional de Trasplantes [CENATRA], 2021). El problema es tal que, en México se estima que cada diez minutos una persona ingresa a lista de espera; asimismo, diariamente mueren 20 personas en espera de algún órgano (UNAM, 2019).

La alta demanda de los órganos para trasplante, cuantificada por las personas que ingresan a lista de espera, en contraste con el número de trasplantes que se realizan en 2021 en México, se visualiza en la **Tabla 1.** Relación de trasplante-demanda en México en 2021.

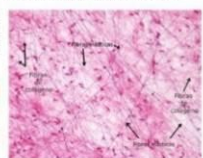
| Relación de trasplante-demanda en México en 2021  |                                  |
|---------------------------------------------------|----------------------------------|
| Número de personas que ingresan a lista de espera | Número de trasplantes realizados |
| Riñón (17 269)                                    | Riñón (1 871)                    |
| Corazón (2 142)                                   | Corazón (2 298)                  |
| Hígado (226)                                      | Hígado (124)                     |
| Corazón (24)                                      | Corazón (25)                     |

**Tabla 1.** Relación de trasplante-demanda en México en 2021. Hernández-Carrillo, D. (2024). con datos de CENATRA (2022).

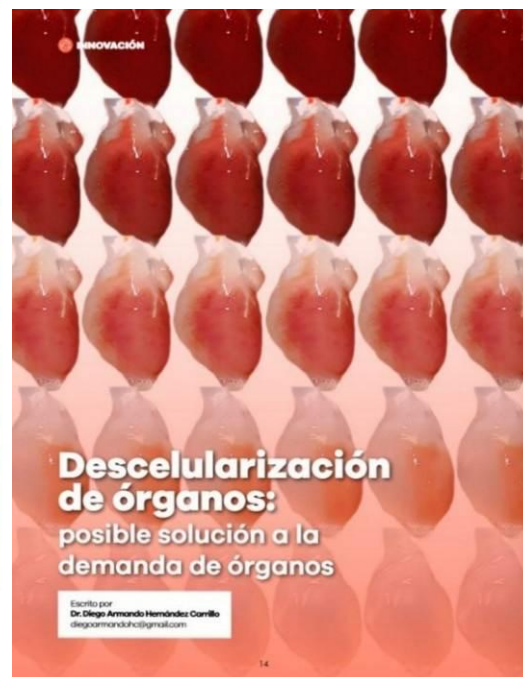
**Bioingeniería, descelsularización y recellularización**

La bioingeniería plantea posibilidades para poder resolver la alta demanda de órganos con fines de trasplante, y uno de los principales vertientes de la bioingeniería para estos fines es la investigación de andamios celulares; en este contexto surge el término de "ingeniería tisular", este nuevo término alude a un área interdisciplinaria, cuyo eje de investigación es la creación de neotidos, con la finalidad de solventar los problemas del desarrollo de órganos artificiales y trasplante de órganos. Entre sus principales estrategias de investigación se encuentra la investigación de andamios celulares (Poma et al., 2018). Los órganos o tejidos empleados en trasplante, que son obtenidos de una especie diferente al receptor son llamados xenotrasplantes, entre las principales especies empleadas está el cerdo.

Los andamios celulares son el resultado de someter un tejido u órgano a un proceso de descelsularización, quedando solamente la matriz extracelular (MEC). El tejido conjuntivo es el de mayor distribución en el cuerpo humano, este tejido está conformado entre la relación de células y MEC, la cual sirve para darle sostén a las células, ya que forma una red interconectada de los componentes de este y otras células. La complejidad y dinámica de la matriz extracelular se puede observar en la **Figura 1.** Componentes de la matriz extracelular.



**Figura 1.** Componentes de la matriz extracelular: fibras de colágeno y fibras elásticas, que se interconectan con las células, formando una red. (Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Facultad de Biología Universidad de Vigo [CBFC-SUS], 2023).



**Descelsularización de órganos: posible solución a la demanda de órganos**

Escrito por  
**Dr. Diego Armando Hernández Carrillo**  
diegoarmando.h@gmail.com

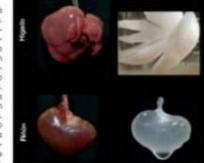
**RESULTADOS**

La descelsularización como técnica se refiere a los procesos y metodologías, así como sus variantes, en la cual se logran eliminar los componentes celulares de tejido u órgano completo, dejando solamente la MEC, la cual sirve como molde (andamio celular). Dentro de la descelsularización existen tres grandes grupos de métodos: físicos; por ejemplo, la congelación y agitación, donde por medio de estos se genera la lisis celular por fuerzas físicas. Químicos; por ejemplo, el uso de detergentes tales como el dodecilsulfato de sodio, cuya aplicación desintegra las membranas celulares. Enzimáticos, como el uso de enzimas tales como la tripsina, que produce la digestión de proteínas de membrana y así genera la lisis celular. Asimismo, en este mismo grupo de métodos también se encuentran las enzimas, que contribuyen a la degradación de las cadenas de ADN, como lo son las endonucleasas y exonucleasas.

Actualmente, las investigaciones biomédicas no buscan la descelsularización de tejidos independientes, sino que se busca la descelsularización de órganos completos para su posterior recellularización, la complejidad de esto radica en el hecho de que los órganos están conformados no solo por un tipo de tejido, sino por varios, ya que si bien algunas técnicas y métodos de descelsularización son eficientes para algunos tejidos, no lo son para otros, a tal punto que algunas técnicas pueden dañar la matriz extracelular de forma irreversible. Los procesos de descelsularización han sido aplicados a varios tipos de tejidos y órganos; asimismo, han sido obtenidos de distintas especies. Una gran parte de las investigaciones en términos de descelsularización se centran en la descelsularización de ratón Wistar. En la **Figura 2** ejemplo de órganos sometidos a proceso de descelsularización se pueden observar ejemplos de órganos sometidos a un proceso de descelsularización de ratón Wistar.



**Sin Contraseñas**



**Figura 2.** Ejemplo de órganos sometidos al proceso de descelsularización. Se observan ejemplos de órganos sometidos a un proceso de descelsularización de ratón Wistar. (Bastien y González, 2014).

En la literatura científica no se ha utilizado una definición universal de descelsularización, aunque sí se pueden enlistar tres características fundamentales: la MEC resultante no debe presentar componentes viables de tipo nuclear en las funciones de hematoxina y eosina o DAPI; la MEC no debe contener más de 20 ng de ADN por mg de peso de MEC y que los fragmentos de ADN no deben superar 200 pb (Crispe et al., 2011).

Dentro de la ingeniería tisular, el hábitat de descelsularización se requiere independientemente habitar del término "recellularización"; este término se refiere a la repoblación de los andamios celulares, con la finalidad de crear un neotido, con la misma anatomía a nivel microscópico, así como su funcionalidad del tejido u órgano completo.

Las investigaciones de la bioingeniería tisular para solventar la alta demanda de órganos y tejidos para uso clínico en humanos ha generado varios avances relativamente recientes, los cuales se agrupan en si en dos grandes grupos: el primero agrupa los órganos producidos como tales, bien por medio de modificaciones de tipo genético en animales tales como los cerdos, para su posterior extracción y posterior trasplante a humanos (xenotrasplante), el segundo grupo, en este sentido, agrupa a los procesos de diseño y creación de andamios celulares por medio de la impresión en 3D, bajo elementos sintéticos y orgánicos; asimismo, este grupo incluye el uso de los andamios celulares para recellularización.

**Anexo 13. Artículo de divulgación “Descelsularización de órganos: posible solución a la demanda de órganos”. Artículo de divulgación “Descelsularización de órganos: posible solución a la demanda de órganos”, publicado en la revista de divulgación científica indexada titulada Sin Contraseñas con ISSN:2992-8702, n° 7, pag 14-18 de la Universidad Virtual del estado de Michoacán. Fuente: Hernández-Carrillo Diego A., 2024.**