UNIVERSITAT ROVIRA i VIRGILI

APLICACIÓN DE ANDAMIOS CELULARES EN INGENIERIA TISULAR PULMONAR

NATALIA ARTUÑEDO JIMÉNEZ

TRABAJO DE FINAL DE GRADO BIOTECNOLOGÍA

TUTOR ACADÉMICO: María Del Carmen Portillo Guisado.

Departamento de Bioquímica i Biotecnología.

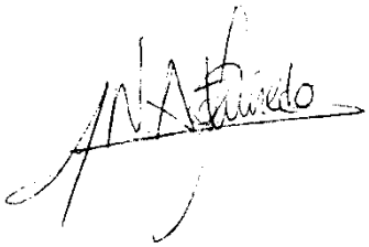
Email: carmen.portillo@urv.cat

Septiembre 2021.

Jo, Natalia Artuñedo Jiménez, amb DNI 20921496-Y, sóc coneixedor de la guia de prevenció del plagi a la URV Prevenció, detecció i tractament del plagi en la docència: guia per a estudiants (aprovada el juliol 2017) (http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/) i afirmo que aquest TFG no constitueixen cap de les conductes considerades com a plagi per la URV.

Tarragona, 06 de Juliol de 2021

(signatura)



ÍNDICE

Agradecimientos 3

1. Resumen 4
2. Introducción 5
3. Objetivos 9
4. Materiales y métodos 10
5. Resultados 12
   - 5.1 Características principales de un andamio. 12
   - 5.2 Estrategias para andamios celulares 15
   - 5.3 Consideraciones de la ingeniería tisular pulmonar 18
   - 5.4 Andamios vasculares y respiratorios 19
   - 5.5 Andamios descelularizados 24
   - 5.6 Andamios basados en hidrogel 29
6. Conclusiones 33
7. Bibliografía 35
8. Autoevaluación 38
9. Anexos 39

Agradecimientos.

Agradecer a mi tutora, María del Carmen Portillo Guisado, por su ayuda en la elaboración de este trabajo y la compresión mostrada durante el proceso. Agradecer también al coordinador de la asignatura, Ricardo cordero, por su implicación a la hora de ayudar a los estudiantes.

A mis padres, ya que sin su constante apoyo, esfuerzo y sacrificio nunca me hubiera sido posible acabar este grado.

A Liviana, por estar siempre dispuesta a escuchar, preguntar y aprender sobre ámbitos científicos y hacerme sentir que nuestro trabajo es valorado. Por todo el apoyo no solo durante la elaboración de este TFG, sino durante todos los momentos difíciles del grado.

A Carla, por ofrecerme siempre una conversación interesante sobre diferentes áreas científicas y proporcionarme la visión de una ingeniera biomédica.

A Juan, por escuchar siempre con paciencia y entusiasmo tanto las cosas que me apasionan como las que me desesperan. Por estar a mi lado en momentos difíciles y ayudarme siempre a encontrar alternativas.

A todos los amigos y familiares que han formado parte de esta etapa universitaria que ha sido tan dura como satisfactoria. Gracias por todos los ánimos, la comprensión y el apoyo. Habéis sido los pilares de este camino.

1. RESUMEN.

La ingeniería de tejidos pulmonar es un campo lleno de retos. Existen múltiples elementos que deben considerarse y múltiples estrategias para su desarrollo y aplicación. En el presente trabajo, se pretende profundizar en el campo de los andamios celulares, sentando primero una base sobre su naturaleza y función, para después examinar tres perspectivas diferentes para su aplicación en la ingeniería tisular pulmonar: la creación de dispositivos de asistencia respiratoria, la formación de órganos completos funcionales y el diseño de andamios basados en hidrogeles para su inyección en zonas específicas del pulmón.

ABSTRACT.

Pulmonary tissue engineering is a field full of challenges. There are multiple elements to consider and multiple strategies for its development and application. In the present work, it is intended to delve into the field of cellular scaffolds, starting by setting a general perspective on their nature and function, and then examining three different perspectives for their application in lung tissue engineering: the creation of lung assist devices, the formation of functional complete organs and the design of scaffolds based on hydrogels for injection into specific areas of the lung.

2. INTRODUCCIÓN.

La ingeniería de tejidos constituye una de las ramas más prometedoras y deslumbrantes dentro del campo de la biotecnología. Definimos esta rama como el campo interdisciplinar que aplica los principios de la ingeniería y las ciencias de la vida con el propósito de desarrollar estructuras biológicas que reemplacen, mantengan o mejoren la función tisular. Esto abarca desde la apliación de pequeñas estructuras o estrategias para la mejor función o regeneración de tejidos, hasta la creación de órganos completos y funcionales. [1]

Tras cursar la asignatura *Ingenieria de Tejidos* en cuarto curso del grado y ante el reto de realizar un trabajo de fin de grado bibliográfico, decidí que este giraría entorno a este campo que había llamado mi atención desde antes de comenzar mis estudios universitarios. Dentro de este campo se barajaron diferentes tejidos y posibilidades de enfocar el trabajo.

Finalmente, me decidí por el tejido pulmonar. La elección se basó en que se trataba de un tejido de vital importancia para el funcionamiento del organismo y con amplia literatura al respecto, un punto muy importante al tratarse de un trabajo bibliográfico donde toda la información plasmada provendría de la investigación de otros autores.

La importancia de la investigación en ingenieria del tejido pulmonar reside en la elevada incidencia de las enfermedades que afectan a este tejido. Diagnósticos como el cáncer de pulmón, la fibrosis quística, le enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la fibrosis pulmonar idiopática, etc., pueden llevar a los pacientes a estados de insuficiencia pulmonar donde un transplante supone la última opción una vez agotados los demás tratamientos.

Actualmente, la demanda de transplantes de pulmón supera con creces la disponibilidad de donantes, así como la compatibilidad de estos con los receptores. Muchos pacientes fallecen todavía en la lista de espera. Además, el paciente debe enfrentarse a tratamientos inmunosupresores que pueden suponer más complicaciones en su estado de salud, existiendo aún así la posibilidad de rechazo o fallo pulmonar. La ingeniería tisular supone una nueva perspectiva en un escenario tan desfavorecedor, proporcionando una alternativa a la donación.

Cabe mencionar también la importancia de la pandemia en esta elección. La crisis del SARS-CoV-2 y la resultante COVID-19 provocaron más de 13,5 millones de casos confirmados y más de 580.000 muertes en todo el mundo reportadas desde el comienzo de la pandemia hasta julio de 2020. [2] Números que han seguido creciendo a lo largo del tiempo. La pandemia ha dejado atrás pacientes con graves lesiones pulmonares, muchos de los cuales se enfrentan al escenario anteriormente descrito. Una enfermedad nueva y altamente infecciosa ha puesto de manifiesto

una vez más la necesidad de encontrar una alternativa al transplante de órganos procedentes de donantes.

Aunque la ingenieria de tejidos puede suponer un enfoque nuevo al tratamiento de las lesiones pulmonares, se enfrenta también a grandes inconvenientes. El pulmón, así como la mayor parte del tracto respiratorio, en un órgano altamente complejo donde se encuentran diversos tipos celulares y estructuras. Además, la creación de un pulmón artificial debe tener en cuenta múltiples consideraciones. Un pulmón artificial debería poder aportar los requisitos de intercambio de gases de un pulmón funcional normal, de manera que mantenga la presión arterial adecuada, disminuya las lesiones de las células sanguíneas y minimize la coagulación y la respuesta inmunológica. [2]

También debe tenerse en cuenta la necesidad de la evaluación *in vivo* y el uso de modelos animales grandes. [2] Ante tantas incógnitas y consideraciones a tener en cuenta, decidí empezar desde la base para entender mejor la dirección de las investigaciones en ingeniería tisular pulmonar.

La ingeniería de tejidos se suele basar siempre en el mismo esquema general. En un procedimiento ideal, en primer lugar, se aislan células específicas de una pequeña biopsia del paciente. Estas células se cultivan bajo condiciones controladas para conseguir un tejido artificial que se interconecte con estructuras porosas llamadas andamios, capaces de soportar la formación tridimensional del tejido. Una vez conseguida esta estructura, debe incorporarse a la zona deseada del cuerpo del paciente. Esta construcción debe de ser capaz de estimular la formación de nuevo tejido dentro del andamio, y dicho andamio puede ser absorvido a lo largo del tiempo. [3]

Para poder llevar a cabo estos procesos son necesarios diversos componentes. Los principales componentes a tener en cuenta en la ingeniería de tejidos pulmonar son los andamios celulares o scaffolds 3D, las fuentes de células o células madre, los factores de crecimiento necesarios para impulsar la diferenciación y proliferación celular, y los biorreactores, sistemas capaces de contener un compuesto 3D biologicamente activo. [4]

Ante la amplia literatura referente a cada uno de los componentes mencionados, decidí decantarme por los andamios celulares. Podemos definirlos como estructuras diseñadas para proporcionar soporte estructural para la adhesión celular de manera que las células puedan proliferar, dando lugar al desarrollo del tejido. [5] Son, como su propio nombre indica, la base sobre la que construir estructuras celulares.

Los andamios celulares han demostrado tener un gran potencial en la construcción de órganos bioartificiales, donde se incluyen tejidos pulmonares funcionales. En general, los andamios se pueden dividir en dos grupos según el tipo de materiales utilizados para su construcción: naturales y sintéticos, aunque también se han desarrollado técnicas mixtas.

Dentro de los andamios celulares naturales encontramos los andamios descelularizados, donde a partir de un tejido ya existente se eliminan las células para trabajar con la matriz, y los andamios biológicos, donde se utilizan componentes naturales del tejido para recrear una matriz extracelular adecuada. Por otra parte encontramos los andamios celulares sintéticos, donde se utilizan materiales artificiales donde las células puedan proliferar. [4]

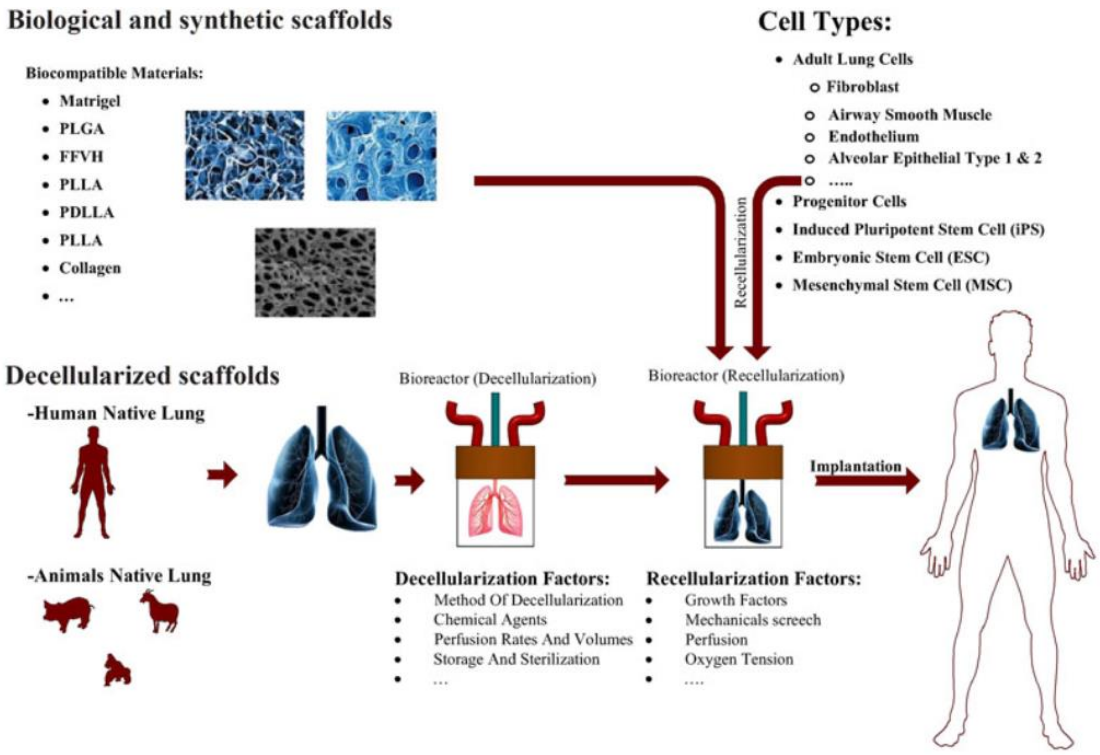


Figura 1. *Componentes de la ingeniería tisular pulmonar. Imagen obtenida del artículo Lung Tissue Engineering: An Update (Tebyanian et al., 2019).[4]*

El objetivo es conseguir un andamio adecuado donde las células puedan crecer y que sea compatible y adaptable al receptor. Una vez consegido este paso, se pasaría al cultivo de las células en un bioreactor y finalmente podría ser implantado en el paciente.

No solo existen múltiples tipos de andamios celulares, sino también múltiples enfoques para su aplicación. Un andamio celular puede utilizarse para desarrollar un órgano completo, una

estructura celular implantable que ayude a la regeneración del tejido o incluso un dispositivo extracelular que ayude en el tratamiento de la enfermedad.

El presente trabajo pretende profundizar en el campo de los andamios celulares contemplando las diversas estrategias y enfoques para su aplicación en la ingeniería de tejidos pulmonar.

3. OBJETIVOS.

El principal objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica científica donde se plasmen los últimos avances y resultados en ingeniería de tejidos pulmonar, principalmente en lo que respecta al uso de andamios celulares. Para ello, se comenzará desde la base, entendiendo las diferentes estrategias para crear un andamio y se revisarán diferentes enfoques para su aplicación.

Mediante este trabajo se pretende también poner en práctica el uso adecuado de bases de datos para encontrar literatura conveniente, la correcta redacción de un trabajo bibliográfico y la perspectiva crítica de toda la información que se obtenga.

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

En primer lugar, se buscaron *reviews* relacionados con el tema de la ingeniería de tejidos pulmonar con el objetivo de obtener una perspectiva general del campo. Para ello, la base de datos utilizada fue PubMed y las palabras clave seleccionadas para la búsqueda fueron "*lung tissue engineering*".

Una vez realizada esta búsqueda, se seleccionaron varios *reviews* teniendo en cuenta sus fechas de publicación. Se seleccionaron *reviews* que fueran posteriores a 2016. Tras su lectura. Una vez analizadas las diferentes posibilidades para enfocar el trabajo, se decidió ampliar el tema de los andamios celulares. Esta vez se recurrió a diversas fuentes citadas en los *reviews* seleccionados, además de ampliar la búsqueda en PubMed con la palabra clave "*scaffolds*".

Para encontrar más fuentes relacionadas con los diferentes tipos de andamios celulares y su funcionamiento, se utilizaron también las palabras clave "*decellularized scaffolds*", "*biological scaffolds*" y "*synthetic scaffolds*".

El planteamiento inicial era descartar artículos posteriores a 2016, pero por tal de poder redactar una buena base para la comprensión de las estrategias en andamios celulares se aceptaron artículos con fechas de publicación anteriores, siendo la fecha de publicación del más antiguo 2008.

En una primera instancia se pretendía hacer una evaluación de los tipos de andamios según su material de construcción, pero a medida que se fueron analizando artículos se cambió la perspectiva, ya que resultaba más interesante estudiar varios enfoques para la aplicación de los andamios.

Se consultaron varios artículos de perspectiva general sobre andamios celulares y biomateriales, principalmente partiendo de las referencias más modernas de los *reviews*. Se descartaron artículos que se basaban en un solo material o tipo de andamio, ya que el objetivo no era profundizar en el tipo de material utilizado o en un andamio en concreto.

Una vez elaborada la base para la comprensión general de los andamios celulares, se procedió a buscar estrategias para su aplicación. Las estrategias desarrolladas en este trabajo se obtuvieron de artículos referenciados en los *reviews* iniciales y en las primeras búsquedas, ya que la mayoría aparecieron en la búsqueda de PubMed utilizando las palabras clave "*lung tissue engineering*".

Finalmente, se profundizó en tres de los enfoques de aplicación que se encontraron, ya que se consideraron perspectivas bastante diferentes entre ellas y resultaba interesante ver como un mismo componente podía resultar en aplicaciones diversas.

5. RESULTADOS.

5.1 Características principales de un andamio.

Los andamios celulares, típicamente compuestos por biomateriales poliméricos, son los encargados de aportar soporte estructural para la adhesión de las células y el subsecuente desarrollo del tejido. [5]

La gran mayoría de tipos celulares, a excepción de las células sanguíneas, requieren un anclaje a una matriz sólida conocida como matriz extracelular (MEC). Existen numerosos tipos de MEC en los tejidos humanos, normalmente formadas por múltiples componentes y con una composición específica para cada tejido. [5] El objetivo de los andamios celulares es mimetizar la matriz extracelular.

Las funciones principales de la MEC pueden resumirse en cinco. En primer lugar, la MEC proporciona soporte estructural y un ambiente físico adecuado para que las células del tejido en cuestión puedan adherirse, crecer, migrar y responder a señales. En segundo lugar, la MEC proporciona al tejido su estructura y, por lo tanto, sus propiedades mecánicas, como pueden ser la elasticidad o rigidez que se asocian con las funciones del tejido. [5]

En tercer lugar, la MEC puede proporcionar activamente señales bioactivas para las células del tejido de manera que regulen su actividad. Un ejemplo sería como la secuencia RGD de la fibronectina promueve eventos de unión, mientras que el patrón topológico regular estimula la alineación preferida por las células. [5]

La MEC puede actuar también como reserva de factores de crecimiento, así como potenciar sus actividades biológicas. Finalmente, la MEC proporciona un ambiente físico degradable que permite la neovascularización y el remodelaje en respuesta a cambios debidos al desarrollo, fisiológicos o patológicos, véase la morfogénesis, la homeostasis y la curación de heridas respectivamente. [5]

Teniendo en cuenta estas consideraciones, llegamos a la conclusión de que el mejor andamio para la ingeniería de tejidos debería ser la MEC del tejido estudiado en su estado nativo. Sin embargo, la compleja composición, las múltiples funciones y la naturaleza dinámica de la MEC en tejidos nativos hacen difícil la creación de un andamio celular exacto a esta. [5]

Así pues, un andamio ideal debería reunir una serie de características. En lo referente a su arquitectura, los andamios deberían proporcionar volumen vacío para la formación de nuevo tejido, la vascularización y el remodelaje, facilitando así la integración del tejido una vez implantado. Los biomateriales utilizados deberían procesarse de manera que se obtenga una

estructura lo suficientemente porosa para un transporte de nutrientes y metabolitos eficiente, pero sin comprometer la estabilidad mecánica del andamio. Además, los biomateriales también deberían ser degradables una vez implantados de manera que el ritmo de degradación armonizara con el ritmo de síntesis de nueva matriz por parte de las células del tejido en desarrollo. [5]

Por lo que respecta a la compatibilidad celular y tisular, los andamios deberían proporcionar soporte tanto a células endógenas como a células exógenas incorporadas al tejido, de manera que puedan adherirse, crecer y diferenciarse durante el cultivo *in vitro* y durante la implantación *in vivo*. [5]

Otro punto que debe tenerse en cuenta es la bioactividad. Los andamios deberían interactuar con los componentes celulares de los tejidos activamente para facilitar y regular su actividad. Los biomateriales utilizados podrían incluir señales como ligandos de adhesión celular para incrementar la unión entre células o señales físicas como la topografía para influir en la morfología y alineación celular. [5]

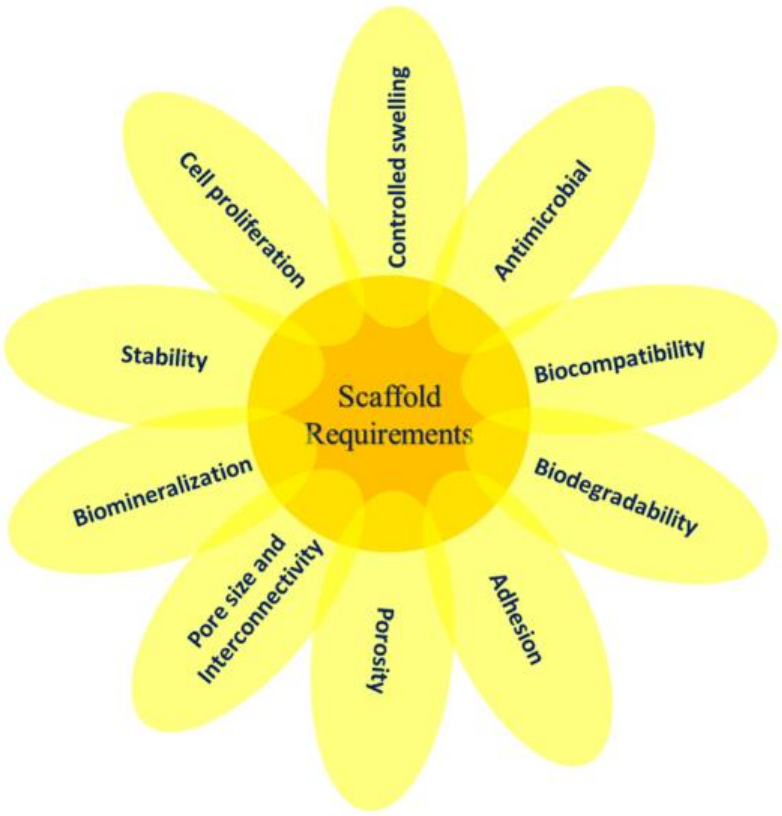


***Figura 2**. Requerimientos de un andamio celular. Imagen obtenida del artículo A Comparative Review of Natural and Synthetic BiopolymerComposite Scaffolds (Reddy et al., 2021) [6]*

Los andamios también pueden servir como vehículo o reserva de señales exógenas para la estimulación del crecimiento, como pueden ser factores de crecimiento para estimular la regeneración. Respecto a esto, los materiales deberían ser compatibles con las biomoléculas y compatibles con una técnica de encapsulación que permita la liberación controlada de las biomoléculas con actividad retenida. [5]

Finalmente, cabe tener en consideración las propiedades mecánicas del andamio. Los andamios se encargan de prestar estabilidad mecánica y de forma al tejido. Las propiedades mecánicas intrínsecas de los materiales utilizados en el andamio deberían adecuarse y mimetizar las del tejido huésped. Varios estudios en mecanobiología han destacado la importancia de las propiedades mecánicas del andamio sobre las células cultivadas en él. Muchos tipos de células maduras como las células epiteliales, fibroblastos, células musculares o neuronas perciben la rigidez del sustrato al ejercer fuerzas de tracción sobre él. Cuando lo hacen, muestran características morfológicas y de adhesión diferentes. También se ha observado que esta sensibilidad mecánica puede influir incluso en procesos de diferenciación celular, llegando a determinar la tendencia de diferenciación. [5]

5.2 Estrategias para andamios celulares.

Dentro del campo de los andamios celulares, encontramos diversas estrategias. Por una parte, encontramos los andamios porosos 3D, andamios prefabricados donde posteriormente se sembrarán las células. Este tipo de andamios puede componerse de materiales naturales o sintéticos. [5] Pueden utilizarse técnicas de impresión 3D, por ejemplo, el *robocasting,* una versátil técnica que permite la producción de andamios con morfologías y estructuras predeterminadas, capaces de soportar su propio peso durante el ensamblaje y que permite un preciso control del tamaño del poro, la forma y la alineación. [7]

Por otra parte, encontramos los andamios descelularizados. En este caso, se parte del tejido nativo en cuestión y se eliminan las células nativas, eliminando todos los antígenos celulares que podría ser fuentes de inmunogenicidad, y manteniendo los componentes de la MEC. [5] De esta manera, se obtiene el andamio que mejor simula la naturaleza del tejido.

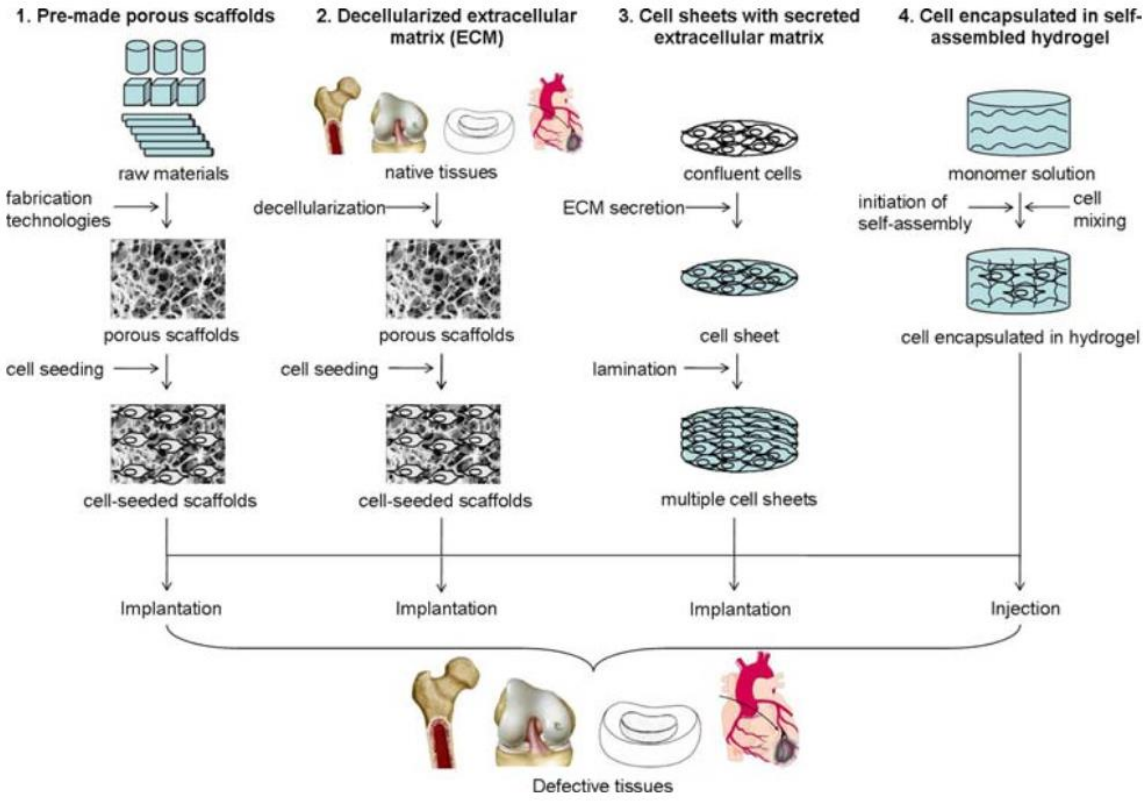


Figura 3. *Estrategias para crear andamios celulares. Imagen obtenida del artículo Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations (Chan y Leong, 2008).*

Otra de las estrategias que podemos encontrar son las láminas de células. En esta estrategia, se cultivan las células sobre un polímero termosensible hasta llegar a cierto nivel de confluencia y estas sintetizan su propia matriz extracelular. No son necesarios métodos enzimáticos para la

posterior obtención del tejido cultivado. Este enfoque resulta excelente para tejido como el epitelio, el endotelio y tejido con gran densidad celular. [5]

Finalmente, encontramos la estrategia de la encapsulación en matrices de hidrogel. En este caso, el propósito es encapsular células vivas dentro de una membrana semipermeable o una masa sólida homogénea. Los biomateriales utilizados para dicha encapsulación son generalmente los hidrogeles, formados por la reticulación iónica o covalente de polímeros solubles en agua. [5]

En la tabla 1, mostrada a continuación, se resumirán las principales ventajas y desventajas de cada estrategia de forma general.

Estrategia.	Ventajas.	Desventajas.
Andamios porosos prefabricados.	Diversidad de elección de materiales, naturales o sintéticos. Diseño preciso de la microestructura y arquitectura.	La siembra de células en estos andamios lleva mucho tiempo y es ineficiente ya que la habilidad de penetración de las células en estos andamios es limitada.
Andamios descelularizados.	Se trata del andamio que mejor simula la naturaleza del tejido en términos de composición y propiedades mecánicas.	Distribución no homogénea de las células al sembrarlas. Dificultad para retener toda la matriz extracelular. Peligro de inmunogenicidad si la matriz no está completamente descelularizada. Se necesita un órgano o tejido nativo que descelularizar para obtener este tipo de andamio.
Láminas celulares con MEC propiamente excretada.	La matriz, al ser generada por las propias células es altamente biocompatible. Excelente para tejidos densos en células como el epitelio y el endotelio. Rápida neovascularización.	Difícil construcción de tejidos gruesos, se necesitan múltiples laminas. Difícil construcción de tejidos ricos en MEC, secreción de MEC limitada.
Células encapsuladas en matrices de hidrogel.	Inyectable. Procedimiento rápido y de un solo paso. Interacción cercana entre las células y los materiales.	Propiedades mecánicas pobres, no utilizables en tejidos que deben soportar cargas físicas.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las diferentes estrategias para crear andamios celulares. [5]

5.3 Consideraciones de la ingeniería tisular pulmonar.

El pulmón nativo posee una ratio área-volumen muy importante, llegando a disponer de una superficie de entre 70 y 100 metros cuadrados de superficie para el intercambio de gases. En esta compleja estructura, encontramos vías respiratorias ramificadas que terminan en sacos alveolares, cavidades de unas 200 micras de diámetro. Estos sacos se cruzan con una red vascular ramificada que difunde un flujo sanguíneo de 5 litros por minuto a través de capilares pulmonares separados de los alveolos por una fina membrar respiratoria. Esta membrana respiratoria tiene de media unas 0,5 micras de grosor, permitiendo así un intercambio eficiente de oxígeno y dióxido de carbono. [8]

La compleja estructura anatómica 3D del pulmón ha hecho de la reproducción de este tejido un desafío. Los enfoques sobre los andamios celulares para el tejido pulmonar se están desarrollando de manera que integren tanto la estructura vascular como las estructuras de las vías respiratorias donde se realiza el intercambio de gases. [8]

Algunos andamios desarrollados utilizan polímeros porosos o redes de microfluidos para crear las estructuras vasculares y las vías respiratorias del pulmón. [8] Esta estrategia va dirigida a la creación de dispositivos de asistencia pulmonar. Por otra parte, los andamios descelularizados también están siendo estudiados como posible opción para crear una estructura pulmonar funcional. En este caso, la orientación va más dirigida a la creación de órganos completos trasplantables. Ambas perspectivas serán estudiadas en este trabajo.

Se estudiará también la estrategia de los hidrogeles inyectables mediante catéteres, donde en lugar de buscar la obtención de una estructura pulmonar funcional *de novo*, se busca remodelar la estructura pulmonar y regenerar el tejido respiratorio perdido debido a patologías. En las siguientes secciones analizaremos los diferentes enfoques propuestos dentro del campo de la ingeniería de tejidos pulmonar.

5.4 Andamios vasculares y respiratorios.

Esta estrategia pretende afrontar el reto de la creación de un andamio pulmonar mediante la elaboración de dos sistemas 3D independientes: por una parte, una red vascular ramificada y por otra las vías respiratorias o “espacio aéreo”. Las redes respiratorias y vasculares deben estar separadas por una membrana permeable a gases con una gran superficie que pueda permitir la difusión de oxígeno y dióxido de carbono de manera eficiente. [8]

En lo que respecta a la creación de la red vascular, la angiogénesis ha sido estudiada como medio para crear vasos sanguíneos para aplicaciones de ingeniería tisular. Sin embargo, la angiogénesis espontánea está limitada como enfoque arquitectónico, y ya que no puede abordar la necesidad de creación de vasos más grandes que puedan conectarse a la red capilar espontánea. Esto supone un problema, ya que un pulmón creado mediante ingeniería tisular debería estar listo para recibir toda la presión cardíaca en el momento de la implantación, por lo tanto, los grandes vasos arteriales y venosos deberían estar completamente desarrollados y conectados a la red capilar para su uso inmediato. [8]

Encontramos también un inconveniente en que la red capilar del andamio pulmonar debe estar estrechamente conectada con las estructuras alveolares, y no existe evidencia de que una red capilar generada mediante angiogénesis espontánea pueda conseguir esto de manera eficiente. [8]

Sin embargo, ha sido posible el desarrollo de un andamio vascularizado para la ingeniería de tejidos pulmonar. Este se basa en los andamios vascularizados para tejido hepático diseñados por el grupo de Vacanti para superar las limitaciones que supone la angiogénesis. El concepto arquitectónico central de este andamio es una red de vasos sanguíneos ramificados creados desde la arteria pulmonar hasta llegar a los vasos capilares pulmonares y luego recogerse en las venas pulmonares. Esta red vascular se posiciona adyacente a la cámara alveolar. De esta manera, la sangre fluye a través de la red vascular microfluídica y el oxígeno fluye a través de la cámara alveolar adyacente. El intercambio de oxígeno y dióxido de carbono se da a través de la membrana que los separa. [8]

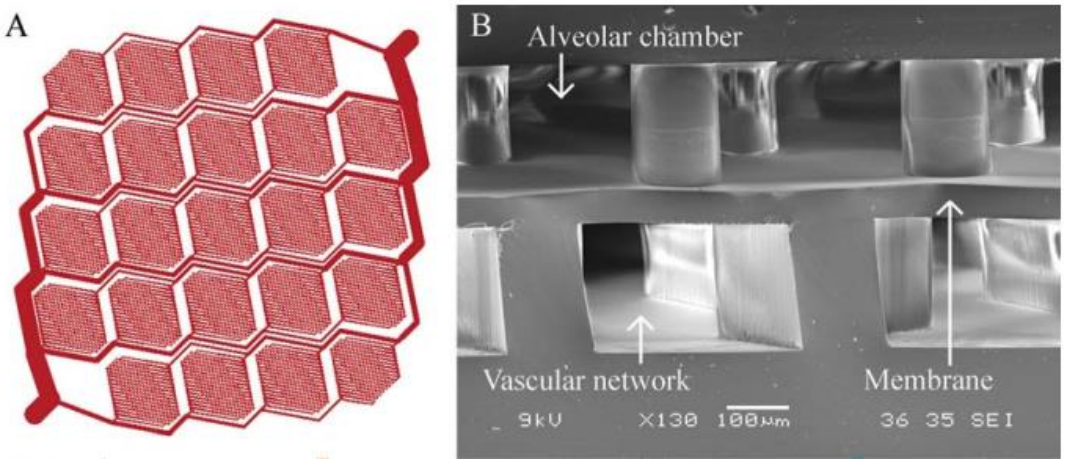


Figura 4. *Diseño de la red vascular del dispositivo de asistencia pulmonar. A. Vista superior de la red vascular ramificada. B. Imagen de corte transversal del borde cortado del dispositivo con membrana de silicona. Imagen obtenida del artículo Lung Tissue Engineering (Hoganson et al., 2014).*

Siguiendo este diseño, se desarrolló una primera generación de tecnología pulmonar utilizando una red vascular ramificada de 200 micras de profundidad. Se probaron tres tipos de membranas para el intercambio de gases:

- Membrana de intercambio gaseoso de silicona de 64 micras de grosor.
- Membrana porosa.
- Membrana porosa con revestimiento de silicona de 3 micras.

Se llevaron a cabo diversas pruebas de intercambio de gases *in vitro* en las que se observó un intercambio creciente de oxígeno y dióxido de carbono a medida que se incrementaba el flujo sanguíneo. Según el texto de los autores, no se observaron diferencias significativas entre las membranas, pero si observamos la gráfica con atención sí podemos observar que, en el caso de la transferencia de dióxido de carbono, se observa una disminución en la membrana de silicona a medida que se aumenta el flujo sanguíneo. En todo caso, se trataba de membranas de primera generación para una tecnología de andamio pulmonar plano. Este primer andamio demostró la potencial utilidad de esta estructura pulmonar como un paso hacia el desarrollo de un pulmón creado mediante ingeniería tisular. [8]

Aunque esta primera generación mostró un intercambio de gases eficiente, la red vascular poseía una única profundidad y presentaba flujo sanguíneo no fisiológico en algunas partes. Así pues, el enfoque fue rediseñado para crear una red vascular con flujo sanguíneo fisiológico. Se desarrolló una serie de principios de diseño basados en las dimensiones y propiedades de vasos biomiméticos, dando lugar al flujo sanguíneo fisiológico, primeramente, en andamios celulares

hepáticos. Estos principios se aplicarían después a los andamios pulmonares, dando lugar a la segunda generación de andamios pulmonares vascularizados. [8]

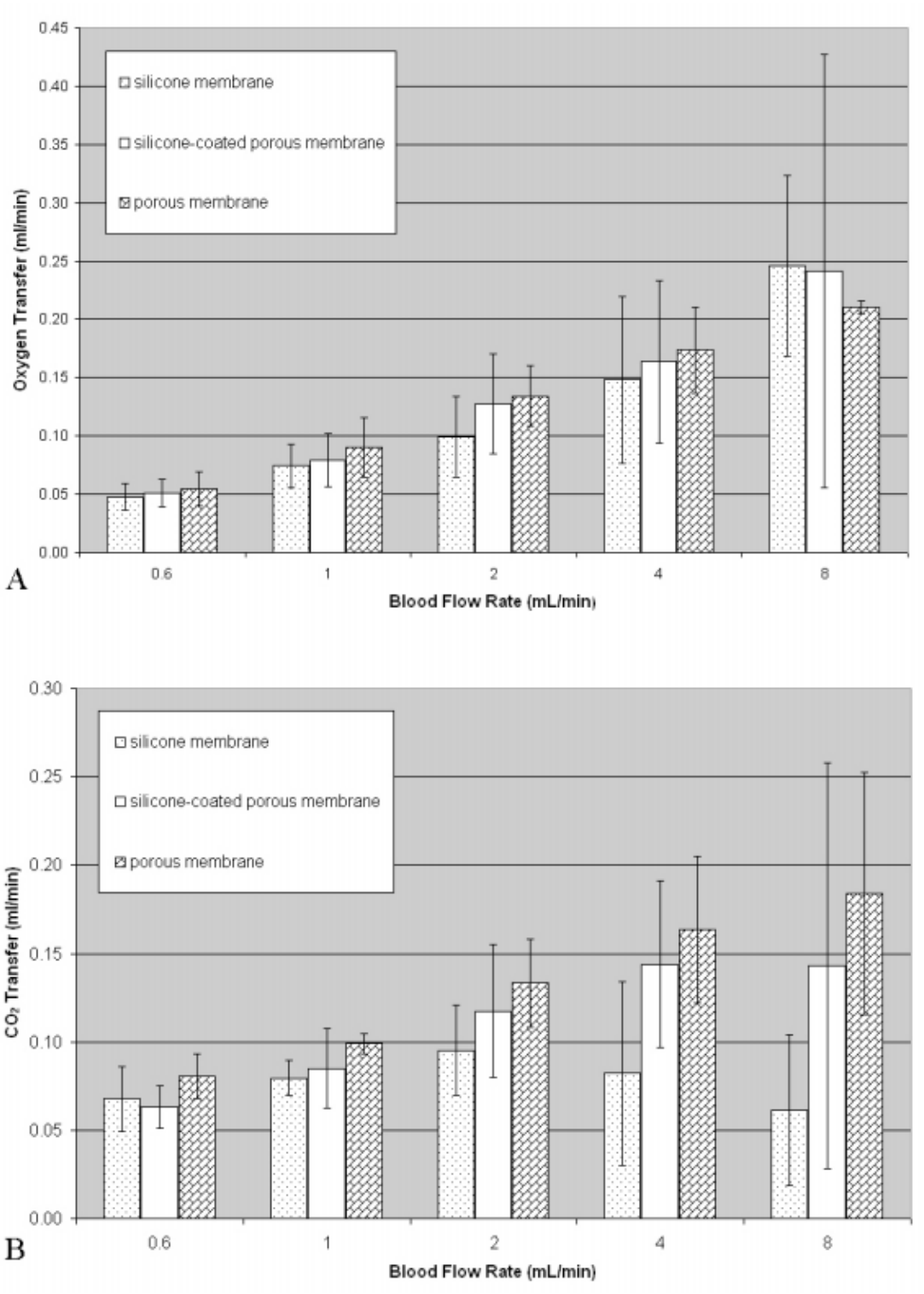


***Figura 5**. A. Transferencia de oxígeno en el dispositivo de asistencia pulmonar frente a tasas de flujo sanguíneo. B. Transferencia de dióxido de carbono en el dispositivo de asistencia pulmonar frente a tasas de flujo sanguíneo. Imagen obtenida del artículo Lung Tissue Engineering (Hoganson et al., 2014).*

El flujo sanguíneo fisiológico es un aspecto altamente importante en un andamio para tejido pulmonar. La tensión de cizallamiento se mantiene en un estrecho margen en los vasos sanguíneos nativos para evitar la activación de las plaquetas, que daría lugar a la adhesión plaquetaria y a la formación de trombos. Dicha tensión debe conseguirse en el andamio para minimizar la activación plaquetaria y la consecuente trombosis. Una vez se ha completado el revestimiento endotelial del andamio, mientras el diseño consiga la tensión fisiológica adecuada, la anticoagulación debería poder retirarse. [8]

Esta segunda generación posee una tensión de cizallamiento dentro del rango de la tensión arterial normal. Además, varios aspectos del diseño se optimizaron aplicando análisis computacionales de dinámicas de fluidos. Se utilizó una membrana de intercambio de gaseoso de silicona mejorada de 8.7 ± 1.2 micras de espesor, y en las pruebas in vitro se observó un intercambio de gases comparable al de los oxigenadores de fibra hueca. [8]

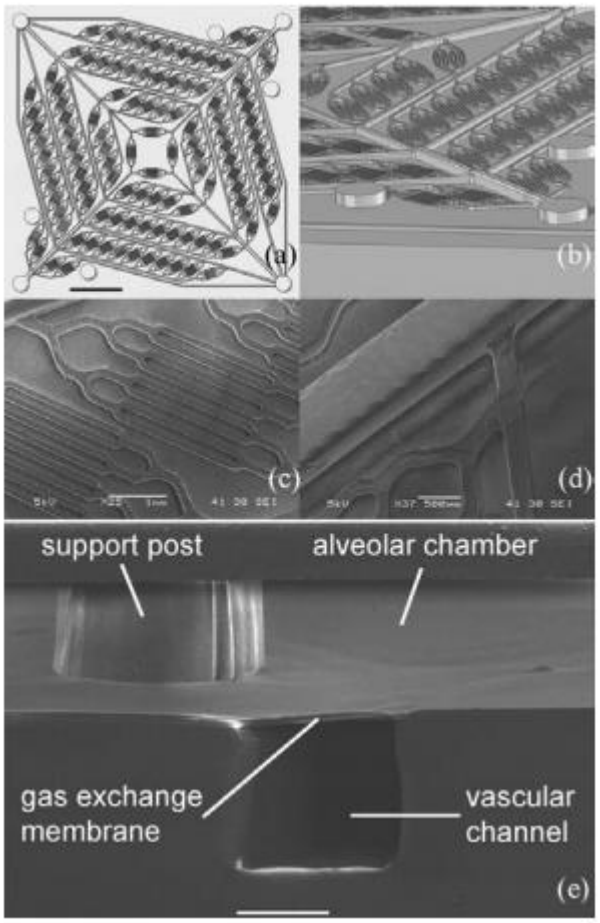


***Figura 6**. Diseño de la red vascular pulmonar con flujo sanguíneo fisiológico. Imagen obtenida del artículo Lung Tissue Engineering (Hoganson et al., 2014).*

Estos andamios pulmonares eran fabricados utilizando silicona y aplicando técnicas de litografía blanda, estándar en microfluídica. Este andamio es un intermedio, un paso en el proceso de crear un andamio reabsorbible que sea adecuado tanto para el intercambio de gases como para la siembra de células epiteliales y endoteliales pulmonares. [8]

Aunque este andamio de silicona no es adecuado para la celularización, puede tener una aplicación clínica como dispositivo de asistencia pulmonar.

5.5 Andamios descelularizados.

Otra gran estrategia en ingeniería tisular pulmonar es el uso de andamios generados mediante la descelularización de órganos completos. La descelularización implica la eliminación de las células nativas de la matriz extracelular de los tejidos para producir un andamio 3D del órgano que, idealmente, mantiene la anatomía 3D del órgano nativo. El primer éxito conseguido mediante la aplicación de esta estrategia fue la obtención de un andamio de corazón completo utilizando técnicas de perfusión. Desde entonces, se ha seguido utilizando con éxito en múltiples órganos incluyendo el pulmón, el hígado, el riñón y el páncreas. [9]

Por lo general, el procedimiento de construcción de andamios a partir de órganos naturales comprende el uso de células que pueden permanecer regenerativas después del aislamiento, su cultivo in vitro, su siembra en andamios preparados, dirigir la diferenciación a células de linaje pulmonar y permitirles madurar y funcionar. [10]

En la siguiente imagen podemos observar un resumen del proceso utilizando como ejemplo un pulmón de rata. En primer lugar, se obtiene el pulmón nativo y se procede a su descelularización. A continuación, el andamio se introduce en un biorreactor que permita el cultivo de los tipos celulares necesarios, en este caso endotelio vascular y epitelio pulmonar. Finalmente, tras varios días de cultivo, el pulmón recelularizado puede retirarse del biorreactor y ser implantado en un modelo singénico de rata.

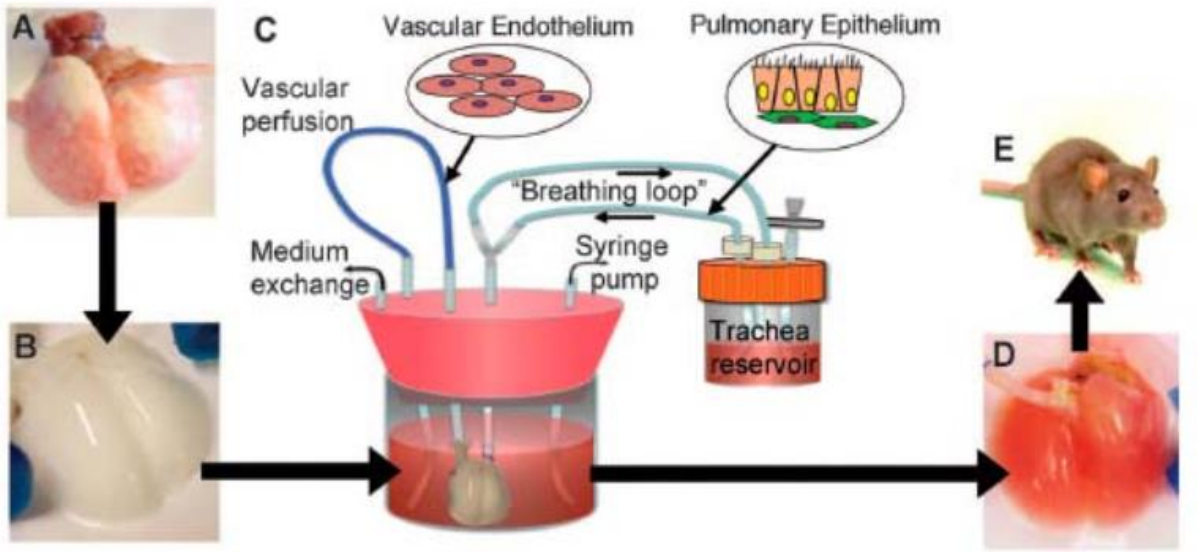


Figura 7. *Esquema para la ingeniería de tejidos pulmonar. Imagen obtenida del artículo Lung Tissue Engineering (Hoganson et al., 2014).*

La descelularización implica el uso de detergentes, sales, enzimas y enfoques físicos para eliminar las células al tiempo que se preserva no solo la composición de la MEC y la arquitectura del órgano, sino también la bioactividad y las propiedades mecánicas de la MEC. Dada la intrincada arquitectura del pulmón humano y la importancia de la interfaz alveolar-capilar, este es sin duda un enfoque que ofrece múltiples ventajas, pero supone un desafío a la hora de desarrollar un andamio elástico y con suficiente superficie para la transferencia de gas. [9]

Dentro de las técnicas de descelularización se pude observar el uso de diferentes materiales. Por lo que respecta a los agentes químicos, encontramos uso de ácidos, bases, disolventes orgánicos, soluciones hipertónicas o hipotónicas, detergentes iónicos, detergentes no iónicos y detergentes de ion híbrido (zwitterionic detergents). También encontramos la aplicación de diversos agentes físicos como son la presión, la congelación y descongelación, la electroporación, la agitación o la sonicación. Cabe mencionar también el uso de agentes enzimáticos como la tripsina o las exonucleasas y endonucleasas. [11]

Entre las técnicas más utilizadas encontramos la perfusión total del órgano. Este proceso utiliza el sistema vascular natural del órgano, lo que podríamos llamar el "sistema de tuberías", para eliminar las células rápidamente desde adentro hacia afuera, lo que permite preservar la ultraestructura 3D de la matriz extracelular del tejido. Encontramos también la técnica de la inmersión y agitación. Como su propio nombre indica, en esta técnica el tejido se sumerge en un detergente descelularizante y se somete a agitación. [11]

Otra técnica utilizada para la descelularización es el gradiente de presión. Esta estrategia se suele utilizar en el caso de los tejidos huecos como puede ser el intestino o los vasos sanguíneos. Se utiliza para acelerar y aumentar la entrada de los agentes descelularizantes a los tejidos y forzar la salida de los componentes celulares residuales. Por otra parte, encontramos la técnica del uso de fluidos supercríticos. Este enfoque emplea sustancias inertes (por ejemplo, dióxido de carbono), que tienen baja viscosidad y altas propiedades de transporte. Los componentes celulares se eliminan de los tejidos cuando los fluidos supercríticos pasan a una velocidad controlada y dan como resultado una alteración mínima de las propiedades mecánicas de la MEC del tejido. [11]

Aunque se han estudiado diversos métodos de descelularización y varios tipos celulares para la recelularización, todavía no hay consenso sobre cuál es el mejor método. [4] La técnica óptima para la descelularización está posiblemente ligada al tipo de órgano y al contexto. [9]

Uno de los mayores retos de la descelularización es conseguir la eliminación suficiente de los restos celulares nativos manteniendo la composición nativa de la MEC. Varios estudios han

demostrado que proteínas propias de la MEC como el colágeno, la laminina, la elastina y la fibronectina pueden retenerse tras la descelularización, mientras que otros han reportado niveles reducidos de proteínas de la MEC y factores de crecimiento. [9]

Por ejemplo, si se utiliza un detergente bipolar como CHAPS para la descelularización de pulmones de rata, se retiene colágeno y algo de elastina dejando intactas las vías respiratorias y las estructuras vasculares, pero se eliminan los glicosaminoglicanos (GAG). Por otro lado, si se usa SDS, se preservan las estructuras alveolares y vasculares y se permite la recelularización y el intercambio de oxígeno, pero se reduce el contenido en elastina de la matriz. [9]

Así pues, el protocolo de descelularización es importante y, por lo tanto, debe optimizarse. Las matrices nativas y los procesos de descelularización son campos en desarrollo y varios estudios se han enfocado en los aspectos desconocidos de esta tecnología. [4]

Otro aspecto clave que debe tenerse en cuenta en la mecánica del pulmón descelularizado. Las alteraciones en la composición de la MEC y la estructura afectan la fuerza y la mecánica del andamio resultante. La descelularización influencia la rigidez de la matriz debido a la eliminación de las células nativas y las alteraciones en la composición de la MEC, pero los efectos no son consistentes. Por ejemplo, en función del método de descelularización utilizado, el mismo órgano puede presentar un incremento de la rigidez y el módulo tangencial, o un cambio mínimo o incluso despreciable. [9] Una vez más, la técnica escogida para la descelularización presenta una gran importancia.

El aspecto de la mecánica de los pulmones descelularizados debe tenerse en cuenta, ya que existe evidencia de que las fuerzas mecánicas pueden influir tanto en la composición de la MEC como en la diferenciación celular. [9]

En la siguiente tabla se resumen diversos estudios llevados a cabo utilizando la estrategia de la descelularización y los resultados que se obtuvieron.

Estudio.	**Andamio descelularidado.**	**Planteamiento.**	**Resultado.**
Kajbafzadeh et al. (2015) [12]	Pulmón de rata.	Un andamio de pulmón completo biocompatible y con terminales alveolares preservados fue descelularizado mediante el uso de detergentes químicos.	La estructura respiratoria terminal permaneció preservada después de la descelularización.
Price et al. (2015) [13]	Pulmón de cerdo.	La matriz pulmonar se descelularizó mediante un método automatizado y se comparó con el método manual (detergente químico).	El método automatizado ofreció una matriz más consistente y redujo el tiempo requerido por el procedimiento de descelularización.
Tebyanian et al. (2017) [14]	Pulmón de rata.	Pulmones de rata fueron descelularizados utilizando detergentes químicos.	La destrucción aumentaba a medida que se aumentaba la concentración de detergente. Su enfoque demostró que pueden mantener la estructura 3D y la MEC del pulmón con una destrucción mínima.
Tebyanian et al. (2018) [15]	Pulmón de rata.	Pulmones de rata fueron descelularizados utilizando detergentes químicos.	Consiguieron obtener un andamio apropiado para recelularización usando células madre y para investigaciones *ex vivo* e *in vivo*.
Crabbé et al. (2015) [16]	Pulmón de ratón.	Pulmones descelularizados utilizando detergentes químicos fueron sembrados con células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (MSCS) y células alveolares tipo II.	Los pulmones de ratón descelularizados se recelularizaron con éxito en un biorreactor de suspensión dinámica con disminución de la apoptosis y aumento de la regeneración en comparación con las condiciones de recelularización estática.

Tabla 2. Resumen de varios estudios sobre andamios descelularizados.

Estudio.	Andamio descelularidado.	Planteamiento.	Resultado.
Wagner et al. (2014) [17]	Pulmones de cerdo y humanos.	Los andamios se sembraron con células epiteliales y endoteliales.	Ambos andamios se repoblaron con éxito con varios tipos de células pulmonares y no pulmonares humanas que pudieron sobrevivir hasta al menos 4 semanas.
Gilpin et al. (2014) [18]	Pulmones de rata, de cerdo y humanos.	Los diferentes pulmones fueron descelularizados por detergentes químicos y recelularizados con células umbilicales humanas del endotelio venoso (HUVEC), células epiteliales de las vías respiratorias pequeñas o células epiteliales alveolares.	Se consiguió un andamio biocompatible con la estructura y composición de la MEC conservadas utilizando el método de descelularización de perfusión basada en SDS.
Ott et al. (2010) [19]	Pulmones de rata.	Los andamios se sembraron con células epiteliales y endoteliales y fueron trasplantados a una posición ortotópica.	Los andamios transplantados que fueron perfundidos por la circulación del organismo receptor y ventilados por las vías y músculos respiratorios del organismo receptor, aguantaron el intercambio de gases in vivo hasta 6 horas después de la extubación.
Ren et al. (2015) [20]	Tejido vascular pulmonar de rata y humano.	Las células se depositaron en el andamio pulmonar utilizando métodos mejorados.	Las células se administraron de manera eficiente, se mantuvieron viables y se lograron lúmenes vasculares perfundibles.

Tabla 2. *Resumen de varios estudios sobre andamios descelularizados.*

5.4 Andamios basados en hidrogel.

Esta estrategia supone un nuevo enfoque en la ingeniería tisular. Los andamios basados en hidrogel permiten su inyección en el tejido para poder repararlo y mejorar su función. El principio de la inyección de biomateriales mediante el uso de catéteres está validado clínicamente.

En aplicaciones pulmonares, esta estrategia supone una gran ventaja. Estos andamios inyectables, que pueden inyectarse mediante catéteres, pueden distribuirse directamente a la zona afectada. A diferencia de enfoques en ingeniería de tejidos que utilizan andamios prefabricados, los sistemas inyectables son un método terapéutico único para áreas del cuerpo difíciles de alcanzar. Esto se debe a que estos andamios tienen la capacidad de adaptarse a cualquier forma deseada. [21]

Otra de las ventajas que supone esta estrategia, es que las células y las moléculas bioactivas pueden incorporarse fácilmente en la solución del andamio. Esto puede hacerse mezclándolas antes de la inyección, o bien inyectándolas simultáneamente junto con el andamio, creando una distribución homogénea dentro de la matriz del andamio. [21]

Además, el proceso de inyección es mínimamente invasivo, de manera que se reduce la incomodidad del paciente, la formación de cicatrices, el riesgo de infección, el coste del tratamiento y el tiempo de hospitalización. [21]

Por otra parte, la administración de estos andamios también implica ciertos desafíos. Para la correcta inyección de los andamios de hidrogel, es necesario un nivel de viscosidad bajo previo a la inyección. El proceso de gelificación que sigue a la reticulación debe comenzar poco después de que el andamio sea inyectado para facilitar así el flujo del andamio a través del catéter. [21]

Además, los materiales que compongan el andamio y sus productos de degradación deben ser biocompatibles. También debe tenerse en cuenta que las estructuras de hidrogel creadas deben presentar las propiedades mecánicas adecuadas para la aplicación específica que se está tratando. Tampoco debe olvidarse que las estructuras del andamio de hidrogel diseñado deben ser porosas para permitir el crecimiento celular adecuado en el interior y la formación de nuevo tejido. [21]

Delante de todos estos retos, el equipo de Shulimzon ha desarrollado nuevos andamios de hidrogel basados en polímeros de hidrogel (gelatina y alginato) y reticulados utilizando carbodiimida. Estos polímeros se diseñaron para poder inyectarse a través de un catéter largo y

delicado junto con aire, y usarse como andamios porosos para la regeneración del tejido pulmonar. [21]

La gelatina y el alginato son dos moléculas altamente adecuadas para este propósito dada su naturaleza. La gelatina es un polímero natural soluble en agua obtenido a través de la hidrólisis irreversible del colágeno. Este polímero contiene secuencias de péptidos inherentes que facilitan la adhesión celular y la degradación enzimática. Se trata de uno de los materiales más investigados para aplicaciones en ingeniería tisular debido a su alta biocompatibilidad y biodegradabilidad. Además, a diferencia de su predecesor el colágeno, no es inmunogénica. Este material es también relativamente barato de producir y tiene un historial de seguridad comprobado en aplicaciones médicas. [21]

Por otra parte, el alginato o ácido algínico, es un polímero de elevado peso molecular que puede encontrarse dentro de las paredes celulares y los espacios intracelulares de las algas pardas. Se conoce que este polímero es biocompatible, no inmunogénico y relativamente barato de obtener. Así pues, el alginato es uno de los polímeros polisacarídicos más estudiados en ingeniería de tejidos, así como en los sistemas de administración de fármacos. [21]

El grupo de Shulimzon seleccionó el alginato como aditivo polimérico para su andamio dada su alta concentración de grupos carboxílicos, que son esenciales para la reacción de reticulación de las carbodiimidas. Esto permite crear una red reticulada tridimensional formada por estructuras de gelatina-alginato. Modulando las cantidades relativas de los tres componentes, se puede controlar las propiedades físicas y mecánicas de los andamios. Esto, junto a la porosidad controlable, hace de estos componentes los más adecuados para aplicaciones de soporte y regeneración pulmonar. [21]

El andamio creado por el grupo de Shulimzon resulta en una típica estructura única al final de proceso, tal como se puede observar en la siguiente imagen (Figura 7). Se tratade una estructura porosa en 3 capa: una capa inferior que presenta baja porosidad, una capa intermedia con porosidad media y una capa superior altamente porosa.

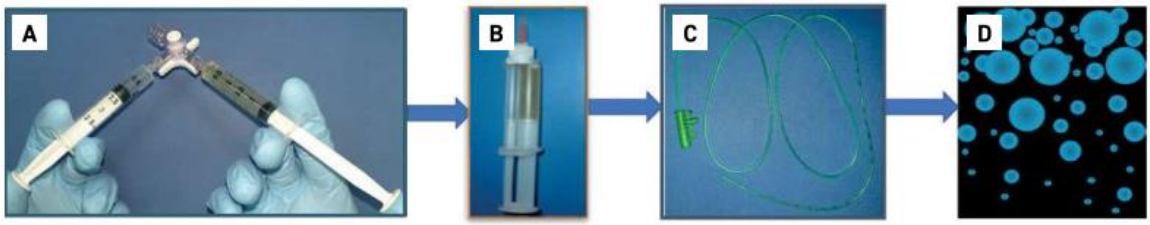


Figura 7. Proceso de preparación e inyección para formar un andamio poroso. A. Formación una solución acuosa gelatina-alginato. B. Mezcla de la solución con el reticulador. C. Inyección mediante el uso de un catéter largo en zonas específicas del pulmón. D. Formación local de estructuras de andamiaje porosas en zonas específicas de pulmón. Imagen obtenida de artículo Catheter Injectable Hydrogel-Based Scaffolds for Tissue Engineering Applications in lung disease (Shulimzon et al., 2020). [21]

La capa inferior, casi densa, le confiere al hidrogel su resistencia, mientras que la capa superior altamente porosa permite la difusión de moléculas, así como la migración celular y el tamaño de poro adecuado para que se dé la proliferación de las células. El papel de la capa intermedia consiste en hacer de unión entre las otras dos capas. [21]

En este estudio se investigaron los efectos de los parámetros de formulación, es decir, las concentraciones de gelatina, algina y reticulante, sobre las propiedades mecánicas y físicas relevantes por tal de encontrar una formulación óptima del andamio para la inyección mediante catéter en el pulmón. Las propiedades mecánicas del hidrogel reticulado son extremadamente importantes y deben ser similares a las de los tejidos pulmonares. Estas propiedades se midieron en modo de tensión para determinar la resistencia del material de hidrogel. [21]

El parámetro físico más importante de la solución acuosa es su viscosidad, ya que esta indica la resistencia al flujo. Una viscosidad elevada no permitiría que la solución fluyera y se inyectara a través de un catéter fino. Por otra parte, una viscosidad demasiado baja daría lugar a que el hidrogel se esparciera por grandes superficies en lugar de permanecer ocupando el área deseada. [21]

Para esta aplicación específica, otra de las características físicas relevantes del hidrogel es su tiempo de gelificación. Se trata del tiempo que tarda la solución acuosa de gelatina-alginato en convertirse en un hidrogel. Es necesario un tiempo de gelificación óptimo para que el médico pueda manipularlo adecuadamente. Un tiempo de gelificación demasiado breve haría difícil realizar el procedimiento de la inyección. [21]

El éxito de este estudio puso de manifiesto la utilidad y viabilidad de los andamios basados en hidrogel inyectables mediante catéteres. Se estudió la biocompatibilidad de los andamios en células mesenquimales de ratón y fibroblastos humanos obteniendo buenos en tasas de

inyección bajas, medias y altas. Este hallazgo significa que las formulaciones propuestas por el grupo de Shulimzon no son citotóxicas y que la inyección de células junto con el hidrogel no afecta su viabilidad incluso a altas tasas de inyección. Se obtuvo una viabilidad de al menos el 70% para todas las muestras durante un mínimo de 7 días. [21]

6. CONCLUSIONES.

La ingeniería tisular pulmonar es sin duda uno de los campos de la biotecnología más interesantes. La creciente necesidad de alternativas terapéuticas para patologías pulmonares ha abierto la investigación de este campo desde múltiples perspectivas. Las tres estrategias revisadas en este trabajo plantean tres enfoques muy diferentes desde los cuales se puede abordar el campo de la ingeniería de tejidos pulmonar.

La primera estrategia revisada partía de la base de comprender el funcionamiento del pulmón y elaborar un dispositivo funcional desde cero. Aunque esta perspectiva resulta muy interesante y desde luego los autores consultados supieron trabajarla de manera brillante, se trata de una estrategia altamente compleja. Este enfoque se dirige hacia la creación de dispositivos de asistencia pulmonar externos más que a la creación de un pulmón funcional completo o a la terapia mediante su aplicación directa.

La optimización del diseño y el escalado a un dispositivo de tamaño clínico son los siguientes pasos principales de esta tecnología. Primeramente, se dirige a la creación de un dispositivo acelular con anticoagulación para uso en pacientes adultos. Con el tiempo, se buscará la conversión a un andamio biomimético con células endoteliales que lo hará aplicable como dispositivo pediátrico o incluso neonatal. Estudios más recientes de los autores han conseguido el intercambio de gases en membranas de colágenos celularizadas. [22]

La segunda estrategia revisada, los andamios descelularizados, es uno de los enfoques favoritos de muchos investigadores de este campo. Es sin duda prometedor. Una de las perspectivas que se contempla es que los andamios descelularizados combinados con el uso de materiales sintéticos sea la ruta hacia un pulmón basado en ingeniería de tejidos. [4]

Múltiples estudios utilizan esta estrategia buscando su optimización, ya que existe un gran trabajo por delante una vez obtenido el andamio. Dentro de este método se han desarrollado estudios de descelularización de pulmones de diferentes especies, normalmente mamíferos, pero estudios más transgresores se han aventurado a hacerlo con pulmones de aves, más eficientes que los de origen mamífero, con resultados satisfactorios. [23]

Actualmente se están desarrollando andamios de tamaño humano. Esta estrategia está en constante desarrollo y es probable que sea la que lleve a la creación de un pulmón bioartificial completo y funcional.

La tercera estrategia se basa en el uso de hidrogeles para crear andamios inyectables. Esta es, a mi parecer, una de las perspectivas con más futuro en la ingeniería de tejidos pulmonar. A pesar

de los múltiples inconvenientes a los que se enfrenta, el uso de hidrogeles parece ser la tecnología más cercana a la aplicación real.

Como los propios autores del artículo trabajado mencionan, los hidrogeles podrían tener cabida dentro de las tecnologías de reducción broncoscópica del volumen pulmonar (RBVP). Los procedimientos de RBVP son un grupo de procedimientos no quirúrgicos innovadores que intentan mejorar el estado de la enfermedad y la función pulmonar de los pacientes que presentan enfermedades como la EPOC moderada a grave, específicamente los que se mantienen con limitaciones a pesar del tratamiento convencional. [24]

Las tecnologías de RBVP, actualmente remodelan la arquitectura pulmonar en dos niveles: periférico (bronquiolos terminales y alvéolos) y central (vías respiratorias principales). Las tecnologías del área central utilizan principalmente dispositivos metálicos (válvulas, espitas y bobinas) y las tecnologías del área periférica utilizan materiales espumosos o vapor. [21]

Hidrogeles como el que se estudia en este trabajo, diseñado por Shulimzon y su grupo, pueden utilizarse como tecnología de área pulmonar periférica. A diferencia de otros enfoques de ingeniería de tejidos que utilizan andamios prefabricados, el hidrogel inyectable a través de un catéter en el área del pulmón es un método terapéutico único, que se puede realizar sin la adición de células o mezclando las células simultáneamente con el hidrogel. [21]

Además, tal y como se menciona en el apartado de resultados, presenta múltiples ventajas: el procedimiento de inyección mínimamente invasivo está diseñado para reducir la incomodidad del paciente, el riesgo de infección, la formación de cicatrices, el costo del tratamiento y el tiempo de hospitalización. La parte in vitro de este estudio mostró las relaciones entre los parámetros de formulación, los parámetros del proceso y la estructura y las propiedades relevantes resultantes [21].

Las aplicaciones clínicas de este tipo de matriz sintética son dobles: remodelación de la arquitectura pulmonar mediante RBVP y regeneración pulmonar como un andamio 3D para implantes celulares o de organoides. [21]

7. BIBLIOGRAFIA.

1. Walles H, Walles T. Extracellular matrix as biomimetic biomaterial: Biological matrices for tissue regeneration. En: Comprehensive Biomaterials. Elsevier; 2011. p. 361–7.

2. Swol J, Shigemura N, Ichiba S, Steinseifer U, Anraku M, Lorusso R. Artificial lungs--Where are we going with the lung replacement therapy? Artif Organs. 2020;44(11):1135–49.

3. O'Brien FJ. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. Mater Today (Kidlington). 2011;14(3):88–95.

4. Tebyanian H, Karami A, Nourani MR, Motavallian E, Barkhordari A, Yazdanian M, et al. Lung tissue engineering: An update. J Cell Physiol. 2019;234(11):19256–70.

5. Chan BP, Leong KW. Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. Eur Spine J. 2008;17 Suppl 4(S4):467–79.

6. Reddy MSB, Ponnamma D, Choudhary R, Sadasivuni KK. A comparative review of natural and synthetic biopolymer composite scaffolds. Polymers (Basel). 2021;13(7):1105.

7. Pina S, Ribeiro VP, Marques CF, Maia FR, Silva TH, Reis RL, et al. Scaffolding strategies for tissue engineering and regenerative medicine applications. Materials (Basel). 2019;12(11):1824.

8. Hoganson DM. Lung tissue engineering. Front Biosci. 2014;19(8):1227.

9. Prakash YS, Tschumperlin DJ, Stenmark KR. Coming to terms with tissue engineering and regenerative medicine in the lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2015;309(7):L625-38.

10. Wagner DE, Bonvillain RW, Jensen T, Girard ED, Bunnell BA, Finck CM, et al. Can stem cells be used to generate new lungs? Ex vivo lung bioengineering with decellularized whole lung scaffolds: Ex vivo lung bioengineering. Respirology. 2013;18(6):895–911.

11. Gupta SK, Mishra NC, Dhasmana A. Decellularization methods for scaffold fabrication. Methods Mol Biol. 2018;1577:1–10.

12. Kajbafzadeh A-M, Sabetkish N, Sabetkish S, Tavangar SM, Hossein Beigi RS, Talebi MA, et al. Lung tissue engineering and preservation of alveolar microstructure using a novel casting method. Biotech Histochem. 2015;90(2):111–23.

13. Price AP, Godin LM, Domek A, Cotter T, D'Cunha J, Taylor DA, et al. Automated decellularization of intact, human-sized lungs for tissue engineering. Tissue Eng Part C Methods. 2015;21(1):94–103.

14. Tebyanian H, Karami A, Motavallian E, Aslani J, Samadikuchaksaraei A, Arjmand B, et al. A comparative study of rat lung decellularization by chemical detergents for lung tissue engineering. Open Access Maced J Med Sci. 2017;5(7):859–65.

15. Tebyanian H, Karami A, Motavallian E, Samadikuchaksaraei A, Arjmand B, Nourani MR. Rat lung decellularization using chemical detergents for lung tissue engineering. Biotech Histochem. 2019;94(3):214–22.

16. Crabbé A, Liu Y, Sarker SF, Bonenfant NR, Barrila J, Borg ZD, et al. Recellularization of decellularized lung scaffolds is enhanced by dynamic suspension culture. PLoS One. 2015;10(5):e0126846.

17. Wagner DE, Bonenfant NR, Sokocevic D, DeSarno MJ, Borg ZD, Parsons CS, et al. Three-dimensional scaffolds of acellular human and porcine lungs for high throughput studies of lung disease and regeneration. Biomaterials. 2014;35(9):2664–79.

18. Gilpin SE, Guyette JP, Gonzalez G, Ren X, Asara JM, Mathisen DJ, et al. Perfusion decellularization of human and porcine lungs: bringing the matrix to clinical scale. J Heart Lung Transplant. 2014;33(3):298–308.

19. Ott HC, Clippinger B, Conrad C, Schuetz C, Pomerantseva I, Ikonomou L, et al. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. Nat Med. 2010;16(8):927–33.

20. Ren X, Moser PT, Gilpin SE, Okamoto T, Wu T, Tapias LF, et al. Engineering pulmonary vasculature in decellularized rat and human lungs. Nat Biotechnol. 2015;33(10):1097–102.

21. Shulimzon TR, Giladi S, Zilberman M. Catheter Injectable Hydrogel-Based Scaffolds for Tissue Engineering Applications in lung disease. Isr Med Assoc J. 2020;22(12):736–40.

22. Lo JH, Bassett EK, Penson EJN, Hoganson DM, Vacanti JP. Gas transfer in cellularized collagen-membrane gas exchange devices. Tissue Eng Part A. 2015;21(15–16):2147–55.

23. Wrenn SM, Griswold ED, Uhl FE, Uriarte JJ, Park HE, Coffey AL, et al. Avian lungs: A novel scaffold for lung bioengineering. PLoS One. 2018;13(6):e0198956.

24. Van Agteren JE, Hnin K, Grosser D, Carson KV, Smith BJ. Bronchoscopic lung volume reduction procedures for chronic obstructive pulmonary disease. Cochrane Database Syst Rev. 2017;2:CD012158.

8. AUTOEVALUACIÓN.

La redacción de este trabajo ha sido, sin duda, un reto personal. Encontrar un tema fue la parte más difícil. La biotecnología es una ciencia muy amplia y ofrece ilimitadas opciones. Finalmente, acabé decidiéndome por el campo de la ingeniería tisular, que había llamado mi atención incluso antes de iniciar el grado en biotecnología.

La búsqueda y selección de información ha sido definitivamente complicada. La cantidad de artículos que existen sobre el tema es abrumadora, y decidir cuales trabajar y cuales descartar ha sido un gran esfuerzo. A pesar de ello, estoy satisfecha con el trabajo elaborado, ya que buscaba entender mejor este campo empezando desde la base y revisando diferentes enfoques, y he cumplido mi expectativa en ese sentido. He explorado más a fondo perspectivas que no llamaron mi atención en un principio y he descubierto que son más interesantes de lo que parecían en primera instancia.

Este trabajo ha implicado mucho tiempo y esfuerzo que se ha visto recompensado con una perspectiva más amplia de las posibilidades de la ingeniería tisular. Aunque me hubiese gustado mejorar el trabajo en múltiples sentidos, estoy satisfecha con los conocimientos resultantes de esta investigación y, definitivamente, me gustaría seguir aprendiendo de este campo en el futuro.

ANEXOS

ANNEX 1

FORMULARI SOL·LICITUD DEL TREBALL DE FI DE GRAU

(A lliurar per correu electrònic al responsable de l'assignatura)

Alumne (Nom/Cognoms): *(omplir camp)*
Natalia Artuñedo Jiménez

Correu-e *(omplir camp)*
natalia.artunedo@estudiants.urv.cat

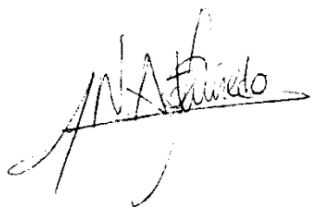
Títol provisional *(omplir camp)*

Aplicación de la ingeniería de tejidos al tratamiento de la lesión pulmonar.

Resum del treball *(omplir camp)*

El presente trabajo bibliográfico pretende revisar las actuales técnicas empleades en la ingeniería de tejidos pulmonar, así como su potencial aplicación al tratamiento de lesiones producidas por diferentes patologías que afectan a este tejido.
(Acotable a una patologia, técnica o proceso concreto)

Signatura del Alumne/a *(escanejades o digitals)*



Tarragona a 10 de abril 2021

ANNEX 2

FITXA DE SEGUIMENT DEL TUTOR/A del TFG

Nom i Cognoms de l'Alumne/a:_Natalia Artuñedo Jiménez

Nom i Cognoms del Tutor/a: Maria del Carmen Portillo

Data de la entrevista amb l'alumne:_22 juliol 2021

Recomanacions durant el seguiment: Incloure els resultats, bibliografia (tant al text com a la llista final) i conclusions

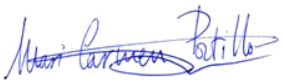
_____

Observacions: La memòria, a la data de la darrera revisió, presenta la estructura i format correctes dels apartats inclosos (portada, índex, introducció, objectius). Falta incloure resultats i conclusions finals així com la bibliografia tant al text com a la llista final.

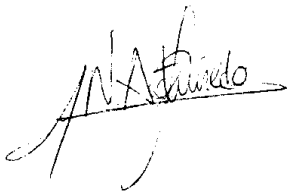
_____

Observacions Darrera revisió:
El tema escollit per a la revisió bibliogràfica és molt interesant, la expressió de la alumna es correcta i manté un format científic correcte. Si assoleix les recomanacions, la memòria complirà les expectatives del TFG programat.

Signatura del Tutor/a



Signatura del Alumne/a



Tarragona a ___22___de __juliol_____2021___