

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

1. Título: DESARROLLO DE PLATAFORMAS PARA CULTIVO IN VITRO DE CARDIOMIOCITOS PARA SU POSIBLE APLICACIÓN TERAPÉUTICA

INFORME FINAL DEL PROYECTO

El proyecto consistió en generar tejido cardíaco a partir de cultivos primarios estandarizados, generar andamios y usar un biorreactor para mantener y potencializar las propiedades electromecánicas del constructo (células cultivadas en andamios).

Objetivo General: Generar tejido cardíaco a partir de cultivos primarios estandarizados, generación de andamios y uso de un biorreactor que permita mantener y potencializar las propiedades electromecánicas del constructo.

Resultado: Fue posible generar tejido cardíaco a partir de cultivos primarios estandarizados en dos modelos de estudio: embriones de pollo y cardiomiocitos de ratas neonatales. Se diseñaron y construyeron andamios de alginato-quitosano y se patentó el desarrollo tecnológico. Se diseñó y construyó un biorreactor para cultivo de células cardíacas el cual también fue patentado. Se cumplió el objetivo general del proyecto y se generaron 2 desarrollos tecnológicos del proyecto, los cuales no estaban considerados inicialmente en el proyecto.

En el proyecto participaron los estudiantes: José Rafael Hernández Castillo (Doctorado), Angélica Reyes Lastiri y Emmanuel Francisco Solano (maestría), Lucía Cajal de la Macorra, Héctor Alexis Montes de Oca Pérez, Emmanuel Francisco Solano, Daniela Vaquero Hernández, Yenifer Alba Trejo, Daniela Itzel Angeles Cruz, Guadalupe Delgado Olascoaga y Cinthya Gonzalez Jacinto (Licenciatura en Ingeniería Biológica), Rosa Angélica González Vilchis y Angélica Piedra Ramirez (Licenciatura en Biología Molecular) y los profesores: José Campos, Izlia Arroyo, Alvaro Lara, Haydée González, Elena Aréchaga, y Mario García Lorenzana. Durante el 2020 y 2021 se tuvo la colaboración de la Dras. Concepción Sánchez y Sara Huerta del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" para realizar cultivos celulares y análisis de las muestras. Durante el 2020 y 2021 también se tuvo la colaboración de los Ing. Raúl Martínez y Brayans Becerra del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" para la generación de los nuevos estimuladores eléctricos y mecánicos.

Objetivos específicos:

- Obtener y estandarizar cultivos primarios de cardiomiocitos embrionarios y neonatales.

Resultado: Se lograron obtener cardiomiocitos en los dos modelos animales propuestos, y los protocolos fueron estandarizados.

- Caracterizar los cultivos de cardiomiocitos a través de la actividad bioquímica de Conexina43, Actina Cardíaca, Troponina T, Troponina I y α -Actina Sarcomérica.

Resultado: Se logró la caracterización de los cultivos celulares mediante análisis histoquímicos y de inmunofluorescencia.

- Construir andamios de alginato y quitosano para cardiomiocitos que favorezcan la adhesión y proliferación celular.

Resultado: Se logró estandarizar el protocolo de fabricación de los andamios, se hicieron pruebas de caracterización fisicoquímica de los andamios propuestos y se generó una patente con los resultados obtenidos la cual se presentó ante el IMPI.

- Realizar pruebas de crecimiento celular sobre los andamios generados para verificar la proliferación y la viabilidad celular.

Resultado: Se hicieron las pruebas de crecimiento celular y se evaluó la proliferación y viabilidad celular obteniendo muy buenos resultados.

- Caracterizar el prototipo de biorreactor cardiaco construido y realizar su validación.

Resultado: Se realizó de manera satisfactoria la caracterización del biorreactor implementado y se generó una patente del desarrollo tecnológico la cual fue presentada ante el IMPI.

- Realizar pruebas de crecimiento y viabilidad del constructo en el prototipo de biorreactor cardiaco construido.

Resultado: Se realizaron las pruebas de crecimiento y viabilidad de los constructos, se generó tejido cardiaco en el biorreactor y se analizó el tejido generado. Se mejoró el sistema de estimulación eléctrica y las condiciones de operación del biorreactor durante el 2021.

2. Logros:

Fue posible cumplir todos los objetivos del proyecto, logrando generar tejido cardiaco, soportes celulares y probar un biorreactor diseñado específicamente para crecimiento de tejido cardiaco. Se estandarizaron los protocolos para realizar los cultivos celulares y generar los andamios, así como la metodología para realizar los análisis del tejido generado artificialmente.

Aun cuando el proyecto tenía considerado la formación de 2 estudiantes de licenciatura, 1 de maestría, 1 de doctorado y 2 servicios sociales, se formaron más recursos humanos respecto a lo planteado inicialmente tanto de licenciatura como de posgrado. Participó durante 3 años en el proyecto un estudiante de doctorado que por motivos personales no pudo terminar sus estudios, se formaron 2 estudiantes de maestría y 8 estudiantes de la licenciatura en ingeniería biológica y 2 de la licenciatura en biología molecular. Participaron en el proyecto 8 estudiantes de servicio social. Además, se incorporó al proyecto una estudiante de doctorado que ya se encuentra cursando su segundo año.

Se consiguió \$1,280,000 de financiamiento externo para la realización del proyecto. Lo cual permitió generar nuevos biorreactores y realizar pruebas que no se habían considerado inicialmente en el proyecto. Contando con la colaboración de investigadores del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" (HIM) y del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (INC).

Se había considerado presentar 4 trabajos en congresos especializados y generar 2 publicaciones. Sin embargo, se presentaron 13 trabajos en congresos especializados, tanto nacionales como internacionales. Y aun cuando no se han logrado concretar las publicaciones, se presentaron ante el IMPI 2 solicitudes de patentes relacionadas con el proyecto.

3. Formación de recursos:

Finalizados:

10 proyectos terminales de licenciatura, 1 tesis de maestría, 8 servicios sociales

En proceso:

1 tesis de maestría (2º año), 1 tesis de doctorado (no concluída), 1 tesis de doctorado (en proceso, 2º año).

Alumna: Lucía Cajal de la Macorra.

Licenciatura en Ingeniería Biológica, UAMC

Proyecto: Caracterización de andamios para crecimiento de células cardiacas. Licenciatura en ingeniería biológica. Diciembre de 2015.

Dra. Nohra Elsy Beltrán Vargas

División de Ciencias Naturales e Ingeniería, Departamento de Procesos y Tecnología. UAM-Cuajimalpa

Alumno: Héctor Alexis Montes de Oca Pérez

Licenciatura en Ingeniería Biológica, UAMC

Proyecto: "Estandarización y caracterización de cardiomiocitos neonatales de rata". 2016

Alumno: Emmanuel Francisco Solano

Licenciatura en Ingeniería Biológica, UAMC

Proyecto: "Evaluación de la permeabilidad y porcentaje de hinchamiento en andamios de alginato-quitosano para cultivo de cardiomiocitos ". Julio de 2018.

Alumna: Daniela Vaquero Hernández

Licenciatura en Ingeniería Biológica, UAMC

Proyecto: "Estudios de la interacción de superficies de alginato-quitosano con NPAu-BSA". Diciembre de 2018.

Alumnas: Alba Trejo Yenifer, Angeles Cruz Daniela Itzel, Delgado Olascoaga Guadalupe y Gonzalez Jacinto Cinthya.

Licenciatura en Ingeniería Biológica, UAMC

Proyecto: "Pruebas de verificación y validación de plataformas para el cultivo de células cardíacas". Diciembre de 2019

Alumnas: Angélica Piedra Ramirez y Rosa Angélica González Vilchis.

Licenciatura en Biología Molecular, UAMC

Proyecto: "Uso de células mesenquimales en ingeniería de tejido cardíaco". Marzo de 2021.

Maestría en Ciencias Naturales e Ingeniería, UAM-C

ESTUDIANTE: Angélica Reyes Lastiri

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Nohra Elsy Beltrán Vargas

"Caracterización y validación de un prototipo de biorreactor para generación de tejido cardíaco". (Sept 2015- Octubre 2017)

Doctorado en Ciencias Naturales e Ingeniería, UAM-C

ESTUDIANTE: José Rafael Hernández Castillo

DIRECTOR DE TESIS: Dra. Nohra Elsy Beltrán Vargas

"Generación y caracterización de tejido cardíaco funcional". (Mayo 2014- Julio 2018)

No finalizó por problemas personales. Se retiró del posgrado en Marzo de 2017.

Maestría en Ciencias Naturales e Ingeniería, UAM-C

ESTUDIANTE: Emmanuel Francisco Solano

DIRECTORES DE TESIS: Dra. Nohra Elsy Beltrán Vargas y Dr. Alvaro R. Lara R.

"Estandarización de cultivo de cardiomiocitos neonatales en un biorreactor eléctrico para el desarrollo de tejido cardíaco". (Dic 2019 a Marzo 2022)

Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM-C

Alumno: Nancy Graciela Viveros Moreno

DIRECTORES DE TESIS: Dra. Nohra Elsy Beltrán Vargas y Dr. Mario García Lorenzana

"Validación pre-clínica de parches cardíacos generados mediante ingeniería de tejidos". (Dic 2020 a Oct 2024)

Servicios sociales:

Daniela Vaquero Hernández

Emmanuel Francisco Solano

Yenifer Alba Trejo

Daniela Itzel Angeles Cruz

Cinthya Gonzalez Jacinto

Guadalupe Delgado Olascoaga

Rosa Angélica González Vilchis

Angélica Piedra Ramirez

4. Fuentes de financiamiento:

Se contó con apoyo externo de Promep para fortalecimiento del CA de Fisiología Celular y Tisular, ya que las tres integrantes del CA formamos parte de este proyecto y apoyamos en la formación de los recursos humanos hasta inicios de 2017.

Proyecto: DESARROLLO DE PLATAFORMAS PARA CULTIVO IN VITRO DE CARDIOMIOCITOS PARA SU POSIBLE APLICACIÓN TERAPÉUTICA

Responsable: Dra. Nohra Elsy Beltrán

Participantes: Dra. Claudia Haydée González, Dr. Alvaro Lara, Dr. José Campos, Dr. Javier Valencia, Dra. Maribel Hernández, Dr. Mario García, Sandra Martínez, Elizabeth Paredes.

Instituciones participantes: DPT y DCN (UAM-C), CBI y CBS (UAM-I), UNAM

Financiamiento: Fortalecimiento de CA. Promep.

Montó: \$280,000

CARACTERIZACIÓN Y VALIDACIÓN PRE-CLÍNICA DE UN BIORREACTOR ELECTROMECAÁNICO PARA GENERACIÓN DE TEJIDO CARDIACO COMO POSIBLE TRATAMIENTO A LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA.

Responsable técnica: Dra. Nohra Elsy Beltrán

Participantes: Dr. Mario García-Lorenzana, Dr. Alvaro Lara R, Dr. José Campos T, Dra. Izlia Arroyo, Dra. Concepción Sánchez, Dra. Sara Huerta, Dr. Emilio Sacristán, M.C. Raúl Martínez.

Instituciones participantes: DPT (UAM-C), CBS y CBI (UAM-I), Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" .

Financiamiento: SECTEI, 2019.

Montó: \$1,000,000

Se buscaron otros apoyos en dos convocatorias de Conacyt. Los proyectos fueron aprobados sin recursos, y se aplicó a la convocatoria de Ciencia de frontera 2019, modalidad Sinergia, pero no fue aprobado el proyecto.

5. Publicaciones:

No se lograron concretar las publicaciones planeadas por el retiro inesperado del estudiante de doctorado, con lo cual fue necesario suspender las actividades del proyecto, y tardamos un año en volver a generar los andamios para su caracterización. Y durante el 2020, debido a la pandemia, no fue posible terminar los experimentos planeados para concretar la primera publicación. Fue muy complicado durante el 2020 continuar con los experimentos, fue necesario realizar nuevos andamios para realizar los cultivos celulares, se descompuso el biorreactor, por lo que fue necesario hacer mejoras al diseño; se retrasó la entrega del material para realizar los cultivos por más de un año y se tuvieron problemas con los equipos en el HIM para realizar los cultivos en el 2020 y 2021. Sin embargo, ya se tiene lista una publicación, la cual se encuentra en proceso de traducción y edición para enviarse a la revista Acta Biomaterialia, con FI de 9.

Aún cuando no estaba planeado en el proyecto inicialmente, se trabajó en una solicitud de patente del biorreactor desarrollado para cultivo de células cardíacas durante el 2017; y durante el 2020 se trabajó en una segunda patente relacionada con los andamios de alginato-quitosano diseñados, ya que se encontró novedad en el proceso de fabricación y su caracterización.

- "SISTEMAS Y MÉTODOS PARA BIORREACTOR". Beltran NE. Instituto Mexicano de la propiedad industrial, MX/a/2017/004364. Con fecha de presentación 04/04/2017.

- SOPORTE DE HIDROGEL DE ALGINATO Y QUITOSANO PARA CRECIMIENTO DE TEJIDOS. Beltran NE, Francisco E., Vaquero D, Arroyo I. Instituto Mexicano de la propiedad industrial, MX/a/2020/012621. Con fecha de presentación 24/11/2020.

6. Presentaciones en congreso:

Se realizaron varias presentaciones de avances del proyecto en eventos nacionales e internacionales los cuales se enlistan a continuación:

Nacionales:

1. DETERMINACIÓN DE LA PERMEABILIDAD EN ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO PARA CULTIVO CELULAR. Angélica Reyes Lastiri, Alvaro R. Lara, Nohra E. Beltrán. 7a Reunión de la Sociedad de Ingeniería de Tejidos de México. Ciudad de México, 8 y 9 de septiembre de 2016.
2. ESTUDIO SOBRE MODIFICACIÓN SUPERFICIAL DE HIDROGELES DE ALGINATO-QUITOSANO CON NANOPARTÍCULAS Y PROTEÍNA PARA INGENIERÍA DE TEJIDOS. Diego Gómez Maldonado, M. en C. José Rafael Hernández Castillo, Dra. Nohra E. Beltrán, M. en C. Roxana López Simeon, Dr. Antonio Topete Camacho, Dr. José Campos Terán. 7a Reunión de la Sociedad de Ingeniería de Tejidos de México. Ciudad de México, 8 y 9 de septiembre de 2016.
3. FABRICACIÓN DE SUPERFICIES Y DE ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO PARA CULTIVO DE CÉLULAS CARDÍACAS. Jose R. Hernandez, Diego Gomez, Claudia H. Gonzalez, Elena Arechaga, Maribel Hernandez, Nohra E. Beltran. 7a Reunión de la Sociedad de Ingeniería de Tejidos de México. Ciudad de México, 8 y 9 de septiembre de 2016.
4. CARACTERIZACIÓN DE ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO PARA SU APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDOS. Daniela I. Angeles Cruz, Cinthya González Jacinto, Yenifer Alba Trejo, Emmanuel Francisco Solano, Nohra E. Beltrán Vargas. XIX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 27 Septiembre – 1 Octubre de 2021.
5. BIORREACTOR ELECTRICO PARA SU APLICACIÓN EN INGENIERÍA DE TEJIDO CARDIACO. Emmanuel Francisco Solano, Raúl Martínez Memijes, Brayans Becerra Luna, Alvaro R Lara R., Eduardo Peña Mercado, Nancy G Viveros Moreno, Mario García-Lorenzana, Nohra E. Beltrán Vargas. XIX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 27 Septiembre – 1 Octubre de 2021.

Internacionales:

1. ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL CULTIVO TRIDIMENSIONAL DE CÉLULAS CARDÍACAS NEONATALES SOBRE ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO. Hernández-Castillo, J. Rafael, Peña-Mercado, Eduardo; García-Lorenzana, Mario; González- de la Rosa, Claudia H.; Aréchaga-

- Ocampo, Elena; y Beltrán-Vargas, Nohra E. III Congreso iberoamericano de Histología. Tulancingo, Hgo. México. 26 al 28 de Octubre de 2016.
2. ALGINATE-CHITOSAN SURFACES FOR CARDIAC CELL CULTURE. Jose R. Hernandez, Diego Gomez, Claudia H. Gonzalez, Elena Arechaga, Maribel Hernandez, and Nohra E. Beltran. 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Orlando, Fl. USA. August 17-20, 2016.
 3. Generación y caracterización de andamios de alginato-quitosano para el crecimiento de células cardíacas. Francisco Solano, Emmanuel; Campos Terán, José, García-Lorezana, Mario; Beltrán-Vargas, Nohra E. XXXIX Congreso Nacional de Histología y V Congreso iberoamericano de Histología. Ciudad de México, México. 17 al 19 de Octubre de 2018.
 4. Diseño y validación de un biorreactor eléctrico para generación de tejido cardíaco. Beltrán Vargas, Nohra E.; Lara R. Alvaro; Peña-Mercado, Eduardo; García-Lorezana, Mario. XXXIX Congreso Nacional de Histología y V Congreso iberoamericano de Histología. Ciudad de México, México. 17 al 19 de Octubre de 2018.
 5. ALGINATE-CHITOSAN SCAFFOLDS MODIFIED BY GOLD NANOPARTICLES FOR CARDIAC TISSUE ENGINEERING. Vaquero Daniela, Campos Jose, García-Lorezana Mario, Beltran Nohra E. VIII International Congress of Histology and Tissue Engineering & VI Congreso iberoamericano de Histología. Murcia, España. 4 al 6 de Septiembre de 2019.
 6. EL USO DE MICROARREGLOS TISULARES EN INGENIERIA DE TEJIDO CARDIACO. Peña-Mercado Eduardo, Hernández-Cueto Daniel, Huerta Yepes Sara, Montecillo-Aguado Mayra, García-Lorezana Mario, Beltran Nohra E. XL Congreso Mexicano & VII Congreso iberoamericano de Histología. Morelia, Michoacán, México. 09 al 13 de Nov 2020.
 7. GENERACION DE CONSTRUCTOS DE TEJIDO CARDIACO EN ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO. Patiño Morales Carlos, Angeles Cruz Daniela, Alba Trejo Yenifer, Sánchez Gómez Concepción, García-Lorezana Mario, Beltran Nohra E. XL Congreso Mexicano & VII Congreso iberoamericano de Histología. Morelia, Michoacán, México. 09 al 13 de Nov 2020.
 8. USO DE NANOPARTICULAS DE ORO CON Y SIN RECUBRIMIENTO DE ALGINATO PARA EL CRECIMIENTO DE CÉLULAS CARDIACAS EN ANDAMIOS DE ALGINATO-QUITOSANO. Patiño Morales Carlos, González Jacinto Cinthya, Sánchez Gómez Concepción, Peña-Mercado Eduardo, Galan Basilio Brenda, Beltran Nohra E. XL Congreso Mexicano & VII Congreso iberoamericano de Histología. Morelia, Michoacán, México. 09 al 13 de Nov 2020.

7. Desviaciones:

Aún cuando se lograron cultivar las células cardíacas y generar andamios, y en general se cumplieron los objetivos del proyecto a finales del 2018, no se lograron concretar las publicaciones porque no se tenían en ese momento estudiantes en el proyecto ni se habían incorporado estudiantes de servicio social al proyecto. Por lo cual en 2019 se solicitó una prórroga para incorporar los estudiantes de servicio social y retomar el trabajo experimental, sin contar con la huelga y la pandemia, las cuales retrasaron todo el trabajo programado.

En 2019 y 2020 se incorporaron varios estudiantes de licenciatura tanto de proyectos terminales como de servicios sociales para apoyar en la generación y caracterización de los nuevos andamios. Esto permitió presentar 4 trabajos más en congreso internacionales, 2 en congresos nacionales y generar una patente más del proyecto en colaboración con 2 estudiantes de la licenciatura en ingeniería biológica y una profesora del DPT.

Durante el 2020 se inició la colaboración como parte de mi estancia sabática con el Hospital Infantil de México "Federico Gómez", en donde se iniciaron los cultivos de células cardíacas en los nuevos andamios diseñados con apoyo de un estudiante de maestría que se incorporó al grupo en Dic de 2019 y se hicieron análisis histológicos e inmunohistoquímicos de los constructos generados. El trabajo fue suspendido por varios meses debido a la pandemia. Luego se hicieron nuevos cultivos en el biorreactor, pero se descompuso la

estimulación eléctrica y la mecánica al realizar los cultivos celulares, y no se contaba con todos los reactivos para generar los cultivos, los cuales tardaron más de un año en llegar. Se trabajó en la generación de un nuevo sistema de estimulación eléctrica en colaboración con ingenieros del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, el cual se logró probar de manera satisfactoria en el 2021.

Fue complicado, pero se pudieron realizar nuevos andamios en el 2020 solicitando un permiso especial de acceso a la Unidad, ya que se necesitaba trabajar durante una semana diariamente y algunos días por más de 8 h diarias. Pero una vez se tuvieron los andamios, fallaron algunos equipos del HIM y luego fue difícil conseguir los neonatos para continuar con los experimentos, por lo cual todo se retrasó.

Durante el 2021 se querían hacer nuevos andamios y nuevamente se solicitó un permiso especial de ingreso a la Unidad, pero en esta ocasión se descompuso la liofilizadora, equipo indispensable para la elaboración de los andamios, por lo que no fue posible realizarlos.

Finalizar los experimentos para las publicaciones ha sido tardado y complicado al no contar con las instalaciones en la UAM para realizar los cultivos de células animales y aun cuando se tienen colaboraciones con otras instituciones dependemos de sus tiempos e infraestructura para poder avanzar.

Ya se tiene un manuscrito completo en traducción y edición para publicarse y se está trabajando en el análisis de resultados de otros experimentos para la segunda publicación, pero es un proceso lento por todo el trabajo del HIM y debemos ajustarnos a sus tiempos.

La ampliación de vigencia del proyecto permitió incorporar más estudiantes de licenciatura y posgrado al proyecto (8), presentar 6 trabajos más en congresos, realizar 8 servicios sociales, generar una nueva patente y finalizar algunos experimentos y análisis para concretar una publicación; por lo que creo que se ha cumplido el alcance de este proyecto de manera satisfactoria.