



Escuela de Obstetricia y Matronería
Carrera Obstetricia, Sede Santiago

**APORTES DE LA INGENIERÍA DE TEJIDOS A LA GINECO-
OBSTETRICIA: UNA REVISIÓN (2013 – 2023)**

Tesina para optar al grado de Licenciado en Obstetricia y Matronería.

Profesor Tutor: Dr. Carlos Godoy Guzmán

Guía Metodológico: Dr. Carlos Godoy Guzmán

Estudiante(s): Constanza Yasmín Bustamante Cofré

Scarlet Belén Christophers Beltrán

Daniela Francisca Cortés Farías

Mariajosé Ignacia Gajardo Flores

Antonia Belén Sánchez Andrade

Camila Priscila Sandoval Vidal

**© Constanza Yasmín Bustamante Cofré, Scarlet Belén Christophers Beltrán,
Daniela Francisca Cortés Farías, Mariajosé Ignacia Gajardo Flores, Antonia Belén
Sánchez Andrade, Camila Priscila Sandoval Vidal.**

Se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra con fines académicos, por
cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita
bibliográfica del documento.

Santiago, Chile.

2023

HOJA DE CALIFICACIÓN

En Providencia, Santiago de Chile a _____ del 2023, los abajo firmantes dejan constancia que las estudiantes Constanza Yasmín Bustamante Cofré, Scarlet Belén Christophers Beltrán, Daniela Francisca Cortés Farías, Mariajosé Ignacia Gajardo Flores, Antonia Belén Sánchez Andrade y Camila Priscila Sandoval Vidal de la carrera de Obstetricia y Matronería, han aprobado la tesis para optar al grado de Licenciatura en Obstetricia y Matronería con una nota de _____.

Académico evaluador

Académico evaluador

Académico evaluador

DEDICATORIA

A mi Fran, que sin su apoyo no podría haber terminado este año. Gracias por tu apoyo incondicional durante estos cuatro años. A mi familia, por siempre creer en mí, aun cuando yo no lo hice. A mis profesoras, que siempre me han impulsado ser mejor día a día y a creer en mis conocimientos. Y a mis amigas, por siempre estar ahí cuando necesité ayuda.

Constanza Bustamante Cofré

Gracias a toda mi familia sobre todo a mi mamá, papa y hermano por siempre acompañarme, entender el estrés y mis cambios de humor. Mención especial a mi perrito Luke y gatito Loki que fueron una contención emocional.

Antonia Sanchez Andrade

A mis dos mamás y a mi papá, quienes han sido un pilar fundamental durante todo este proceso, entregándome todo su apoyo y amor. Sin ellos, nada de esto hubiera sido posible. Agradecer también a mi hermana, quien siempre estuvo ahí a pesar de las dificultades que existieron, ayudándome y sacándome siempre una sonrisa. A mi pololo y a mis amigos por su amor, comprensión y sobre todo, confianza que me entregaron. Y por último, a mis perros Maui, Katar y Toffee y a mi gata Kira, por su compañía brindada.

Belén Christophers Beltrán

A mi mamá, por ser mi pilar fundamental y nunca soltar mi mano, incluso en los momentos más complejos; a Jansi, por su apoyo y palabras alentadoras cuando más las necesitaba; a mis bebés, Emilio, Trinidad, Emma y Vicente, cuyas sonrisas y abrazos diarios al llegar a casa fueron mi motivación para seguir; y a mi pololo, por ofrecer contención, compañía y amor incondicional. Sin ustedes, este logro no hubiera sido posible. Gracias por ser mi fuente de inspiración y apoyo constante.

Daniela Cortés Fariás

En primer lugar, a mi familia, principalmente mis padres y hermano por tener fe en que seré capaz de lograr todo lo que me proponga y ser un apoyo incondicional, a mi pololo por siempre creer en mí durante este proceso y no dejar que me rinda, a mis bebés Kuky y Jake por siempre ser mi contención emocional y finalmente gracias a mis amigas por hacer de este largo año mucho más ameno.

Camila Sandoval Vidal

A mi mamá por guiarme a ser mejor cada día y por su apoyo incondicional. También a mi pololo, por darme ánimo en los momentos más difíciles de este proceso, por creer en mí cuando ni yo misma lo hacía y no dejar que me rindiera. Por último, pero no menos importante, agradecer a mi familia y amigas por su constante atención y disposición para ayudarme en todo momento. Sin el apoyo de todas estas personas no podría haber llegado hasta este punto de mi carrera, es por eso que estoy infinitamente agradecida con cada uno de ellos.

Mariajosé Ignacia Gajardo Flores

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestro profesor tutor y guía Carlos Ignacio Godoy Guzmán, quien nos orientó durante todo este largo proceso, siendo nuestro pilar fundamental en la confección de nuestra investigación. Nos entregó las mejores herramientas posibles y nos incentivó a seguir pese a las dificultades que se nos presentaron en el camino. Su disposición por querer ayudarnos hizo que no decayeramos como equipo de trabajo y siguiéramos con nuestro principal objetivo, finalizar nuestra tesina.

Agradecer también, al equipo de trabajo por todo el compromiso y responsabilidad entregada que hubo en el desarrollo de esta tesina, por el trabajo colaborativo, compañerismo, resiliencia y respeto que se fue desarrollando durante todo este camino.

Por último, queremos dar las gracias a todas las personas que estuvieron presentes en este proceso, ya sean amigos y familiares, que aportaron de una u otra manera para poder llevar a cabo esta tesina.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
OBJETIVOS	15
Objetivo general	15
Objetivos específicos.....	15
DISEÑO METODOLÓGICO	16
COMBINACIONES.....	17
Combinaciones en español.....	17
Combinaciones en inglés.....	17
Combinaciones en portugués	17
Criterios de inclusión	21
Criterios de exclusión.....	21
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	86
CONCLUSIÓN	102
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	105
ANEXOS.....	118

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Descripción general de los términos utilizados para la creación de andamios	12
Tabla 1: Bases de datos PubMed.....	18
Tabla 2: Bases de datos Web Of Science	19
Tabla 3: Bases de datos SCOPUS.....	20
Figura 2: Flujograma n°1: Diseño metodológico	22
Tabla 4: El material de hidrogel de sericina FGF1 diseñado genéticamente trata la adhesión intrauterina y restaura la fertilidad en ratas.....	23
Tabla 5: Ingeniería de hidrogeles adhesivos autorreparantes con propiedades antioxidantes para la prevención de adherencias intrauterinas.	25
Tabla 6: Una combinación de tratamientos físicos y químicos es más eficaz en la preparación de armazones uterinos acelulares.	27
Tabla 7: Las células madre mesenquimales establecen un medio inmunológico favorable a la regeneración después del trasplante de tejido de útero de rata descelularizado	28
Tabla 8: Alo- y xeno reensamblaje de miometrio humano y de rata a partir de células y andamios.....	29
Tabla 9: Diseño y caracterización de andamios nanofibrosos de policaprolactona conjugada con maltosa para ingeniería de tejido uterino	30
Tabla 10: El tejido uterino de bioingeniería apoya el embarazo en un modelo de rata.	32
Tabla 11: Un andamio endometrial uterino descelularizado mejora la regeneración del endometrio en ratas.....	33
Tabla 12: La regeneración endometrial mediante técnicas de trasplante de láminas celulares en ratas facilita el éxito de fertilización y embarazo	34
Tabla 13: Comparación de las características de las MEC derivadas de la membrana amniótica, el endometrio y la orina y sus efectos sobre la regeneración endometrial en un modelo de lesión uterina en rata.....	35
Tabla 14: Un hidrogel de gelatina/sericina inyectable cargado con células madre mesenquimales del cordón umbilical humano para el tratamiento de la lesión uterina.	36

Tabla 15: Parches de microagujas compuestos de punta de flecha con adhesión a la superficie anisotrópica para prevenir las adherencias intrauterinas.....	37
Tabla 16: Los patrones moleculares asociados al daño dependientes del protocolo de descelularización en estructuras de útero de rata afectan de manera diferencial la respuesta inmune después del trasplante.....	38
Tabla 17: Regeneración de cuernos uterinos en ratas utilizando colágeno: Andamios cargados con tallo embrionario humano	40
Tabla 18: Desarrollo de un protocolo eficaz basado en perfusión para la descelularización de todo el órgano del útero ovino como modelo de tamaño humano y aplicación <i>in vivo</i> de los bioandamios.....	41
Tabla 19: Los andamios de matriz de vejiga urinaria mejoran la regeneración endometrial en un modelo de adherencias intrauterinas en ratas	43
Tabla 20: Reconstrucción parcial del cuello uterino en rata mediante un armazón cervical uterino humano descelularizado combinado con células madre derivadas del tejido adiposo	44
Tabla 21: Estructura ovárica humana descelularizada basada en un protocolo tratado con lauril éster sulfato de sodio (SLES), como estructura tridimensional natural para la construcción de ovarios modificados mediante bioingeniería	46
Tabla 22: Optimización del protocolo de siembra de células en el andamio ovárico descelularizado humano: aplicación de un sistema dinámico para bioingeniería	48
Tabla 23: Autocrinación hormonal mediante administración de hidrogel vascularizado de esferoides ováricos para rescatar disfunciones ováricas.	49
Tabla 24: Un modelo de la topología y la mecánica del ovario humano para la bioingeniería y el diagnóstico de próxima generación.....	51
Tabla 25: La inyección intra ovárica de plasma rico en plaquetas en el tejido ovárico promovió el rejuvenecimiento en el modelo de insuficiencia ovárica prematura en ratas y restableció la tasa de ovulación mediante la modulación de la angiogénesis.	52
Tabla 26: Características de un tejido ovárico humano descelularizado creado mediante protocolos combinados y su interacción con células mesenquimales endometriales humanas.	54
Tabla 27: Un novedoso prototipo de ovario artificial basado en fibrina que se asemeja al tejido ovárico humano en términos de arquitectura y rigidez.	56
Tabla 28: Primer paso en el desarrollo de un andamio de fibrina biodegradable en 3D para un ovario artificial.....	57

Tabla 29: El trasplante <i>in vivo</i> de construcciones ováricas encapsuladas en 3D en ratas corrige las anomalías de la insuficiencia ovárica.....	58
Tabla 30: Bioimpresión tridimensional de ovarios artificiales mediante un método basado en extrusión utilizando biotinta de Gelatina-metacrilato.....	60
Tabla 31: La melatonina y el hidrogel de alginato-fibrina cargado de células endoteliales promovieron la angiogénesis en ovarios de rata criopreservados/descongelados trasplantados a sitios heterotópicos.	62
Tabla 32: La fibrina facilita el uso de células madre mesenquimales para mejorar el síndrome de ovario poliquístico en ratas.	63
Tabla 33: Andamio descelularizado xenogénico: una nueva plataforma para la regeneración de ovarios.	64
Tabla 34: Evaluación de mallas de polipropileno electrohiladas y ultraligeras en el modelo de oveja para cirugía vaginal	65
Tabla 35: El potencial del nuevo andamio basado en quitosano en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos a través de la ingeniería de tejidos.....	67
Tabla 36: Síntesis y caracterización asistida por microondas de nuevos materiales a base de quitosano para el tratamiento de prolapso de órganos pélvicos.	69
Tabla 37: Desarrollo de una malla protésica a base de celulosa para el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos: En vivo evaluación a largo plazo en un modelo de vagina de oveja	71
Tabla 38: Geles GelMA atrapados en nanopartículas de azul de Prusia cargados con células madre mesenquimales como posibles biomateriales para la reparación de tejido del suelo pélvico	73
Tabla 39: Recubrimiento de hidrogel cargado de ácido tánico confiere a la malla de polipropileno capacidad hemostática y antiinflamatoria para facilitar la reparación del suelo pélvico.....	74
Tabla 40: Elaboración de mallas de PDO e investigación de sus parámetros de fabricación.....	75
Tabla 41: Materiales de malla aumentados con células madre: un estudio <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	77
Tabla 42: Un método de recubrimiento de fibrina de mallas de polipropileno permite la adhesión de células estromales mesenquimales derivadas de la sangre menstrual: una nueva estrategia de administración para terapias basadas en células madre.....	78
Tabla 43: Producción de biomateriales liberadores de ácido ascórbico para la reparación de suelo pélvico.	80

Tabla 44: Malla de nanofibras electrohiladas con factor de crecimiento de tejido conectivo y células madre mesenquimales para la reparación del suelo pélvico: estudio a largo plazo	81
Tabla 45: Andamio electrohilado compuesto que contiene matriz amniótica descelularizada para el prolapso de órganos pélvicos.	83
Tabla 46: Efectos de los recubrimientos de quitosano sobre mallas de polipropileno para implantación en un modelo de pared abdominal de rata.....	84

RESUMEN

Introducción: Dentro de las causas de la falta de donantes, se pueden mencionar la falta de información en relación con el proceso de donación, creación de mitos y creencias equívocas, temor a diversas opiniones ajenas, entre otras. Esta es una de las razones por la que surge la ingeniería de tejidos, también llamada medicina regenerativa, la cual es un área emergente de la bioingeniería que integra química, medicina, histología, biología e investigación científica. En el ámbito de la Gineco-Obstetricia, la medicina regenerativa ha demostrado ser especialmente prometedora. La aplicación de la ingeniería de tejidos en esta disciplina busca mejorar y desarrollar tratamientos innovadores para condiciones ginecológicas y obstétricas. Un ejemplo destacado es la regeneración de tejidos uterinos y trastornos del piso pélvico, que podría ofrecer soluciones avanzadas para mujeres que han experimentado traumas uterinos o enfrentan problemas relacionados con el embarazo o el prolapso de órganos pélvicos. **Objetivo:** Analizar la literatura científica publicada entre los años 2013 y 2023 respecto a los nuevos aportes de la ingeniería de tejidos en el campo de la Obstetricia y Ginecología. **Metodología:** Se realizó una investigación de revisión bibliográfica narrativa. **Bases de datos:** Pubmed, Web of Science (WOS) y SCOPUS. **Palabras claves:** “Bioingeniería”, “Ginecología”, “Obstetricia”, “Útero”, “Diafragma pélvico”, “Ovario”; en inglés: “Bioengineering”, “Gynecology”, “Obstetrics”, “Uterus”, “Pelvic Floor”, “Ovary”; y en portugués: “Bioengenharia”, “Ginecologia”, “Obstetrícia”, “Útero”, “Diafragma da Pelve”, “Ovário”. **Operador booleano:** “AND”. **Filtros:** artículos publicados desde enero del 2013 hasta mayo del 2023, artículos originales y completos, publicaciones académicas, artículos y publicaciones en español, inglés y portugués. **Resultados:** Los estudios descritos mostraron que la bioingeniería ha demostrado un avance en relación con la reconstrucción y reparación de útero, ovario y piso pélvico comprobado en experimentos exitosos en ratas y ovinos. **Conclusiones:** Se concluyó que el impacto de la bioingeniería en el campo de la Gineco-Obstetricia durante la última década se ha manifestado de manera significativa, lo cual se ha evidenciado a través de una serie de experimentos que han culminado en la recreación exitosa de tejidos nativos.

Palabras clave: Obstetricia, Ginecología, Ingeniería de tejidos.

ABSTRACT

Introduction: Among the causes of shortage of donors, one can mention the lack of information regarding the donations process, the creation of myths and mistaken beliefs, fear of varied external opinions, among others concerns. This is one of the reasons why tissue engineering, also known as regenerative medicine, emerges as an area within bioengineering which integrates chemistry, medicine, histology, biology and scientific research. In the Gyneco-Obstetrics ambit, regenerative medicine has proved to be specially promising. The application of tissue engineering in this discipline seeks to improve and develop innovative treatments for gynecology and obstetrics conditions. A prominent example is the regeneration of uterine tissues and pelvic floor disorders, which could offer advanced solutions for women who have experienced uterine trauma or face problems related to pregnancy or pelvic organ prolapse. **Methodology:** Narrative literature review research. **Databases:** PubMed, Web of Science (WOS) y SCOPUS. **Key words:** In Spanish: “Bioingeniería,” “Ginecología,” “Obstetricia,” “Útero,” “Diafragma pélvico,” “Ovario”; in English: “Bioengineering,” “Gynecology,” “Obstetrics,” “Uterus,” “Pelvic Floor,” “Ovary”; and in portuguese: “Bioengenharia,” “Ginecologia,” “Obstetrícia,” “Útero,” “Diafragma da Pelve,” “Ovário”. **Boolean operator:** “AND.” **Filters:** Articles published from January 2013 to May 2023, original and full-text articles, academic publications and articles and publication in Spanish, English, and Portuguese. **Results:** The studies described showed that bioengineering has demonstrated progress in reconstruction and repair of the uterus, ovaries, and pelvic floor, as confirmed in successful experiments in rats and sheep. **Conclusions:** It was concluded that the impact of bioengineering in the Gynecology and Obstetrics over the last decade has manifested significantly, this has been evidenced through a series of experiments that have culminated in the successful recreation of native tissues.

Key words: Obstetrics, Gynecology, Tissue engineering.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la prevalencia de Enfermedades No Transmisibles (ENT) alrededor de todo el mundo ha significado un incremento en el número de personas con falla orgánica producto de enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratoria, diabetes, falla renal y patologías malignas; llegando a representar el 74% de las muertes a nivel mundial (World Health Organization: WHO, 2022). La opción terapéutica más accesible ante la falla orgánica es el trasplante de órganos, sin embargo, no es novedad que la falta de donantes ha provocado un desequilibrio ante las grandes listas de espera existentes, convirtiéndose en una problemática de salud pública a nivel mundial (Vera et al., 2019). El Observatorio Global de Donación y Trasplante (GODT) reporta que, durante el año 2021 en países dentro de la Unión Europea, la lista de espera se elevó a 52.355 personas, de las cuales fallecen 10 personas al día debido a la falta de donantes (Ministerio de Sanidad de España, 2022). Por otra parte, Health Resources & Services Administration (HRSA) indica que actualmente, sólo en Estados Unidos, las listas de espera por trasplante de órganos sobrepasan las 100.000 personas, añadiendo cada 10 minutos otra persona a la lista y que, de estas, 17 fallecen diariamente esperando un trasplante (Health Resources & Services Administration [HRSA], 2023). En Chile, la tasa de donantes fallecidos en 2022 fue de 8,6 por millón de personas, mientras que las listas de espera por órganos en lo que va durante el año 2023 supera las 3.000 personas (Ministerio de Salud de Chile, 2023).

Dentro de las causas de la falta de donantes, se pueden mencionar la carencia de integralidad en el proceso de pesquisa de estos, donde se destaca la ausencia de información que da paso a la creación de mitos y creencias equívocas sobre el proceso (Vera et al., 2019). Además, un estudio de Bustamante et al. (2008) demostró que las principales desmotivaciones que presentan los chilenos a la hora de donar son miedos relacionados con la muerte, la desconexión anticipada y la mutilación del cuerpo (40,9%); también, la falta de información en relación con el

proceso de donación (19,9%) y el temor a que la opinión de la persona no sea respetada por su familia (15,4%). Mientras que, por otra parte, los receptores de estos trasplantes y sus familias suelen tener problemas psicológicos derivados del trasplante de órganos (Pérez San Gregorio et al., 2005).

Esta es una de las razones por la que surge la ingeniería de tejidos, también llamada medicina regenerativa, la cual es un área emergente de la bioingeniería que integra química, medicina, histología, biología e investigación científica (Lukin et al., 2022). Utiliza principalmente la implantación de andamiajes celulares o acelulares, fabricados en base a biomateriales sintéticos y/o naturales (Brownell et al., 2022). Los andamios, también llamados matrices extracelulares sintéticas, se definen como estructuras tridimensionales de soporte temporal, que funcionan como sustituto de la matriz extracelular natural y dirigen el crecimiento celular, jugando un rol fundamental en el apoyo y sostén de las células (Collins & Birkinshaw, 2013).

La regeneración y reemplazo de tejidos, se lleva a cabo mediante la aplicación de andamios, a los cuales se le suman los factores de crecimiento y métodos de descelularización, entre otros, con el objetivo y desafío de restaurar la función del tejido (Li & Sun, 2022; Ashhammakhi et al., 2022). En la actualidad, los resultados de los trasplantes tisulares mediante ingeniería de tejidos aún no son los esperados, debido a la complejidad de cumplir con los requisitos necesarios para su total funcionalidad en conjunto con el organismo, mecánica y composición celular (Wei et al., 2022). Aun así, la investigación dentro de esta área continúa avanzando con el fin de desarrollar mecanismos y técnicas más efectivas, debido a la escasez de donantes de trasplantes de órganos (Ashhammakhi et al., 2022). Se espera que estos avances transformen el tratamiento de enfermedades y lesiones graves que impliquen pérdida total o parcial de funcionalidad de órganos y tejidos reproductivos; ofreciendo así, otras alternativas terapéuticas (Peng et al., 2017).

La ingeniería de tejidos se nutre principalmente en base a 3 aspectos importantes: las células madre, los factores de crecimiento y los biomateriales. Las células madre desempeñan un papel fundamental en el ámbito de la medicina regenerativa. Esto se debe a su capacidad para migrar hacia la zona lesionada,

diferenciarse en distintos tipos celulares, secretar sustancias bioactivas con funciones esenciales y poseer capacidad inmunomoduladora (Wei et al., 2022).

Sin embargo, no todas las células madre tienen el mismo origen; pueden derivar, por ejemplo, de la médula ósea, tejido adiposo, cordón umbilical, útero o ser de origen embrionario (Wei et al., 2022). En el caso de las células madre derivadas de la médula ósea, su aplicación es más limitada y se utiliza principalmente para la reconstrucción endometrial (Wei et al., 2022). Por otro lado, las células madre mesenquimales del cordón umbilical en la medicina regenerativa presentan una serie de beneficios, como su fácil acceso, rápida capacidad de autorrenovación y menor probabilidad de desencadenar respuestas inmunológicas, lo que las convierte en una buena opción de tratamiento para el futuro (Wei et al., 2022). Es importante mencionar que, si bien las familias de células madre tienen beneficios significativos, también pueden conllevar riesgos, como en el caso de las células madre embrionarias, que debido a su capacidad proliferativa y de diferenciación, podrían estar relacionadas con la formación de tumores (Wu X. et al., 2020).

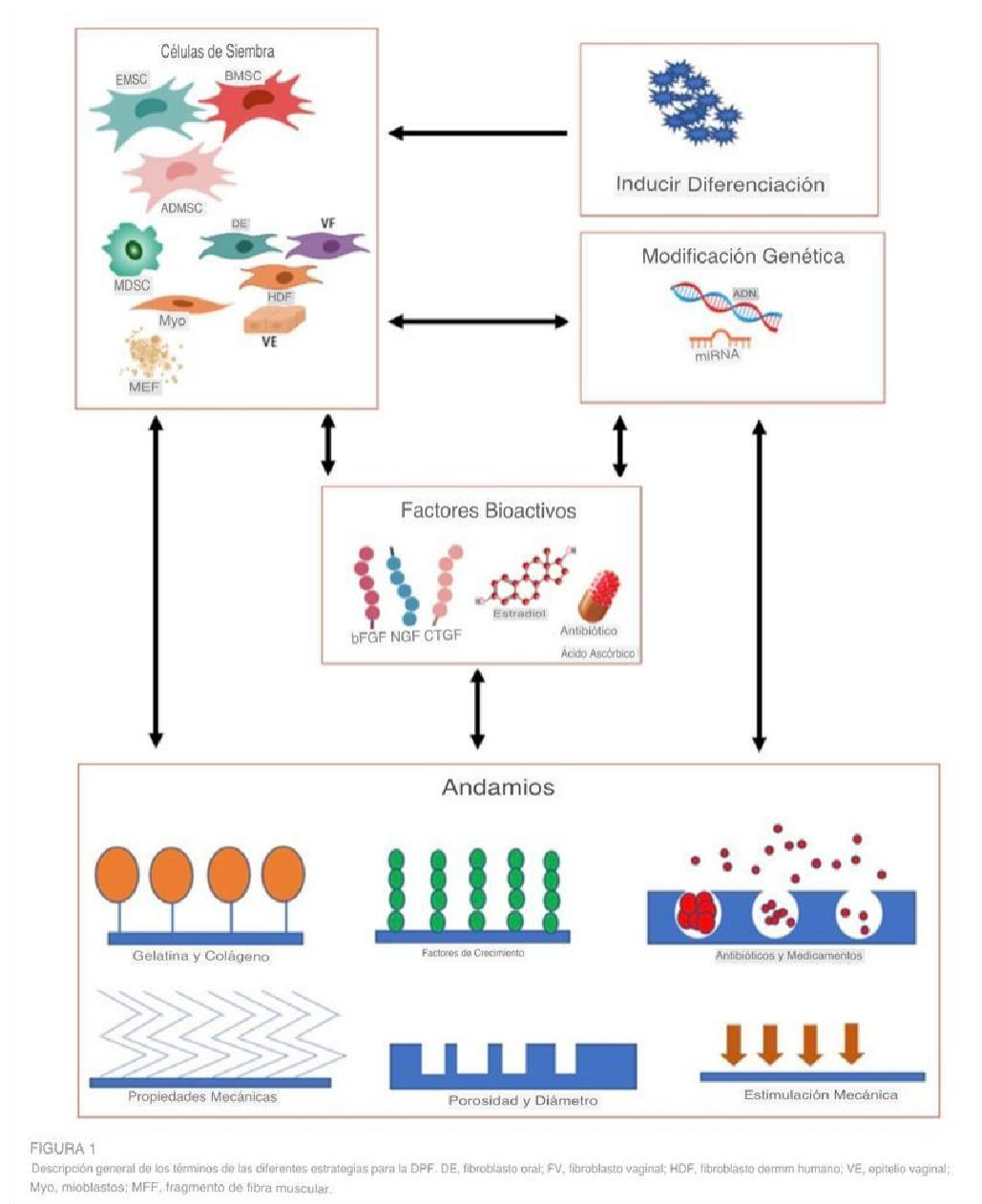
Por otro lado, se encuentran los factores de crecimiento, los cuales participan en variados procesos fisiológicos del cuerpo humano. Si bien también se ha estudiado que los factores de crecimiento inducen procesos fisiopatológicos como la angiogénesis tumoral (Vimalraj, 2022), la bioingeniería de tejidos ha sabido utilizar el potencial de transformación de estos para la formación de células mesenquimales y apoyar la adaptación de andamios y biomateriales en los órganos receptores como lo es el Factor de Crecimiento Transformante Beta [FCT- β] (Kwak & Lee, 2019) o bien, utilizarlos de manera generalizada para apoyar la regeneración de tejidos, como lo son el plasma rico en plaquetas, los factores de crecimiento de fibroblastos y el factor de crecimiento vascular endotelial (Bakhshandeh et al., 2017).

Finalmente, y como tercer aspecto fundamental de la ingeniería de tejidos, destacan los biomateriales. Si bien la bioingeniería se desarrolla por medio de la utilización de estructuras de soporte llamadas andamios tridimensionales, (Loh & Choong, 2013) también es necesario el uso de los biomateriales; estos deben ser potencialmente útiles y cumplir con cuatro características esenciales. La primera es la biocompatibilidad, esta es la propiedad más importante, ya que de esta forma los

andamios pueden integrarse de manera correcta en el receptor, otorgándoles la capacidad de no ser rechazados por el huésped; esto les permitirá mantener las propiedades nativas de los tejidos donde se integraron dichos andamios (Lin et al., 2022; Kim et al., 2021). La segunda característica es la biodegradación, esta propiedad permite que los andamios se mantengan como un apoyo estructural en el proceso de regeneración y posteriormente a este periodo se degraden, siendo reemplazados de manera gradual por las células del tejido inicial (Asti & Gioglio, 2014; Li & Sun et al., 2022). La tercera, es que deben tener propiedades mecánicas específicas como la flexibilidad, el estiramiento, la resistencia a la tensión y la solidez, para ejercer la función del órgano regenerado. La cuarta y última propiedad, es la biomimética, esto significa que los andamios deben tener la capacidad de lograr la imitación de las cualidades naturales de los tejidos reparados (Kim et al., 2021).

De igual manera, los biomateriales pueden dividirse según su origen, como sería el caso de los biomateriales poliméricos naturales. Estos cuentan con la biocompatibilidad, el reconocimiento celular por parte de los tejidos del huésped y además la flexibilidad, que hace que sea sencillo adaptarlos a diferentes formas (Peng et al., 2017). Otro tipo de material, son las matrices tisulares acelulares, las cuales se obtienen a través de un proceso de descelularización, donde se eliminan los componentes celulares del tejido, pero se mantiene su estructura (matriz extracelular) para garantizar el crecimiento de nuevos tejidos. Estas son muy utilizadas, ya que como se mencionó anteriormente, poseen una formación determinada que se adhiere a una estructura tridimensional, lo que favorece el crecimiento de nuevas células (Asti & Gioglio, 2014). Por último, se encuentran los polímeros sintéticos que se pueden obtener en mayor cantidad y variedad con características adecuadas para su funcionamiento debido a las condiciones de fabricación; estos además son bastante más económicos y garantizan una relación eficaz entre las células de los vasos sanguíneos (Peng et al., 2017; Asti & Gioglio, 2014).

Figura 1: Descripción general de los términos utilizados para la creación de andamios



Nota. Descripción general de los términos utilizados para la creación de andamios, EMCS: células madre mesenquimales endometriales; BMSC: células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea; ADMSC: células madre mesenquimales derivadas del tejido adiposo; DE: fibroblasto oral; VF: fibroblasto vaginal; HDF: fibroblasto; VE: epitelio vaginal; MyO: mioblastos; MFF: fragmento de fibra muscular; MDSC: células madre mesenquimales musculares; NGF: factor de crecimiento neuronal; CTGF: factor de crecimiento de tejido conectivo; BFGF: factor de crecimiento fibroblástico básico. Adaptado de *Tissue-engineered repair material for pelvic floor dysfunction*, por Lin et al., 2022, [10.3389/rbioc.2022.968482](https://doi.org/10.3389/rbioc.2022.968482)

A continuación, se abordan algunos avances ligados a la ingeniería de tejidos en el campo de la Gineco-Obstetricia, específicamente en ovarios, piso pélvico y útero.

Los ovarios, son órganos esenciales para la función reproductiva de las mujeres, estos pueden verse afectados por diversas patologías, las cuales tienen un amplio impacto tanto en la salud sexual y reproductiva, como en el bienestar de las mujeres. La ingeniería de tejidos surge como una posibilidad de tratamiento para ciertas patologías, ya sea, tumores ováricos, ausencia de ovarios o el síndrome de ovario poliquístico, entre otras (Brownell et al., 2022). En 1990, Gosden realizó el primer intento de ingeniería de tejidos mediante un experimento realizado en ratones esterilizados, donde el injerto de ovarios utilizado logró restablecer la fertilidad, dando como resultado final la preñez de los ratones. Desde el trabajo inicial de Gosden, se han logrado desarrollar varios modelos de ovarios mediante la ingeniería de tejidos, siendo este un medio esperanzador para la solución de patologías ováricas (Brownell et al., 2022).

Del mismo modo, con relación a la disfunción del piso pélvico, esta es una patología que afecta en mayor parte a mujeres de mediana a avanzada edad. Se asocia generalmente a lesiones pélvicas posterior al trabajo de parto o en aquellas que han cursado múltiples partos. Según Wu X. et al. (2020) el tratamiento más común es la reparación quirúrgica, ésta puede realizarse con materiales biológicos o sintéticos como, por ejemplo, los parches de propileno. Sin embargo, éstos han provocado diversos efectos secundarios en el organismo.

Finalmente, durante las últimas dos décadas se han creado diversos modelos de ingeniería tisular con el fin de desarrollar un útero artificial para futuras aplicaciones en esta disciplina. La mayoría de los estudios y modelos realizados se basan en el desarrollo de andamios y selección de biomateriales a utilizar en función del tejido que se busque reparar. Estos modelos y andamiajes se han enfocado principalmente en reconstruir el endometrio, aunque no consideran la complejidad de las capas que lo componen, por esto es por lo que no se ha logrado desarrollar un modelo completo de útero artificial (Brownell et al., 2022).

En este contexto, la labor investigativa de esta tesina se centra en la interrogante, ¿cuál es el aporte de la ingeniería de tejidos en el área de la Gineco-Obstetricia entre los años 2013 y 2023?

La importancia de llevar a cabo esta investigación radica en que la bioingeniería se está convirtiendo en una potencial alternativa terapéutica para el tratamiento de patologías relacionadas con el aparato reproductor femenino. Además, esta disciplina podría solucionar la actual problemática respecto al trasplante de órganos. Por lo tanto, es fundamental expandir el conocimiento en el área de la ingeniería de tejidos aplicada a la Gineco-Obstetricia al quehacer de la matronería.

La matronería tiene la responsabilidad de velar por el bienestar de las mujeres a lo largo de su ciclo vital y buscar constantemente soluciones integrales adaptadas a las necesidades individuales de cada persona. En el contexto de la ingeniería de tejidos, el rol como profesionales de la matronería incluye principalmente el acompañamiento, la educación y la entrega continua de información a mujeres y sus familias en caso de una posible enfermedad. Así como también, apoyar el proceso de recuperación total o parcial de la funcionalidad de los órganos, en caso de necesidad de trasplante u otro procedimiento, manteniendo como fin la promoción de la salud en todo el ciclo vital de la mujer.

Es por esta razón, que los profesionales de la matronería deben mantenerse en constante aprendizaje y actualización acerca de los nuevos enfoques terapéuticos que puedan contribuir tanto en la salud física como mental de cada paciente. Esto implica basarse en los avances científicos en el campo de la ingeniería de tejidos u otras líneas terapéuticas disponibles, para estar al día con las necesidades y los avances actuales de la sociedad y la ciencia.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Analizar la literatura científica publicada entre los años 2013 y 2023 respecto a los nuevos aportes de la ingeniería de tejidos en el campo de la Obstetricia y Ginecología.

Objetivos específicos

- Describir los nuevos aportes de la ingeniería de tejidos en la reparación o reemplazo de úteros afectados por diversas patologías.
- Describir los nuevos aportes de la ingeniería de tejidos en la reparación o reemplazo de piso pélvico afectado por diversas patologías.
- Analizar los nuevos aportes de la ingeniería de tejidos en la reparación o reemplazo de ovarios afectados por diversas patologías.

DISEÑO METODOLÓGICO

Se realizó una revisión bibliográfica narrativa en diferentes bases de datos, desde el año 2013 hasta el año 2023, donde fueron seleccionados artículos relacionados a la ingeniería de tejidos en Obstetricia y Ginecología. Las bases de datos consultadas en esta revisión fueron PUBMED, Web of Science (WOS) y SCOPUS. Para realizar la búsqueda fueron empleados los siguientes descriptores en Ciencias de Salud (DeCS): “Bioingeniería”, “Ginecología”, “Obstetricia”, “Útero”, “Diafragma pélvico”, “Ovario”; en inglés: “Bioengineering”, “Gynecology”, “Obstetrics”, “Uterus”, “Pelvic Floor”, “Ovary”; y en portugués: “Bioengenharia”, “Ginecología”, “Obstetrícia”, “Útero”, “Diafragma da Pelve”, “Ovário”. Paralelamente, fueron generadas 5 combinaciones de búsqueda para cada idioma con el operador booleano “AND” para delimitar la información. Además, se aplicaron los siguientes filtros al momento de realizar las búsquedas en las bases de datos correspondientes:

Filtros

- Artículos publicados desde enero del 2013 hasta mayo del 2023.
- Artículos originales y completos (FULL TEXT).
- Publicaciones académicas.
- Artículos y publicaciones en español, inglés y portugués.

A continuación, se presentan las combinaciones de búsqueda planteadas en los 3 idiomas a utilizar, además se incluyen tablas con las combinaciones y resultados de las búsquedas (tabla 1, tabla 2 y tabla 3):

COMBINACIONES

Combinaciones en español

1. “Ingeniería de tejidos” AND “Útero”
2. “Ingeniería de tejidos” AND “Ovarios”
3. “Ingeniería de tejidos” AND “Diafragma pélvico”
4. “Ingeniería de tejidos” AND “Obstetricia”
5. “Ingeniería de tejidos” AND “Ginecología”

Combinaciones en inglés

1. “Tissue engineering” AND “Uterus”
2. “Tissue engineering” AND “Ovaries”
3. “Tissue engineering” AND “Pelvic floor”
4. “Tissue engineering” AND “Obstetrics”
5. “Tissue engineering” AND “Gynecology”

Combinaciones en portugués

1. “Bioengenharia” AND “Útero”
2. “Bioengenharia” AND “Ovário”
3. “Bioengenharia” AND “Diafragma da pelve”
4. “Bioengenharia” AND “Obstetrícia”
5. “Bioengenharia” AND “Ginecologia”

Tabla 1: Bases de datos PubMed

IDIOMA	COMBINACIÓN	ARTÍCULOS	ARTÍCULOS CON FILTROS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
INGLÉS	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Uterus"</i>	113	51	4
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Ovaries"</i>	52	27	1
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Pelvic floor"</i>	75	29	0
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Obstetrics"</i>	704	379	3
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Gynecology"</i>	601	334	2
ESPAÑOL	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Útero"</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Ovarios"</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Diafragma pélvico"</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Obstetricia"</i>	1	1	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Ginecología"</i>	1	1	0
PORTUGUÉS	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Útero"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Ovário"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Diafragma da pelve"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Obstetrícia"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Ginecologia"</i>	1	0	0
TOTAL		1.548	822	10

Tabla 2: Bases de datos Web Of Science

IDIOMA	COMBINACIÓN	ARTÍCULOS	ARTÍCULOS CON FILTROS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
INGLÉS	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Uterus"</i>	109	31	2
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Ovaries"</i>	38	16	1
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Pelvic floor"</i>	58	16	4
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Gynecology"</i>	49	13	0
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Obstetrics"</i>	49	17	0
ESPAÑOL	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>Útero</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>Ovarios</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Diafragma pélvico"</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>Obstetricia</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Ginecología"</i>	0	0	0
PORTUGUÉS	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>Útero</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>Ovário</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Diafragma da pelve"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Obstetrícia"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Ginecologia"</i>	0	0	0
TOTAL		303	93	7

Tabla 3: Bases de datos SCOPUS

IDIOMA	COMBINACIÓN	ARTÍCULOS	ARTÍCULOS CON FILTROS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
INGLÉS	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Uterus"</i>	2.269	358	8
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Ovaries"</i>	5.856	871	7
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Pelvic floor"</i>	1.205	174	6
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Gynecology"</i>	13.440	201	2
	<i>"Tissue engineering"</i> AND <i>"Obstetrics"</i>	12.769	906	3
ESPAÑOL	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Útero"</i>	2	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Ovarios"</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Diafragma pélvico"</i>	0	0	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Obstetricia"</i>	3	1	0
	<i>"Ingeniería de tejidos"</i> AND <i>"Ginecología"</i>	2	0	0
PORTUGUÉS	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>Útero</i>	1	1	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>Ovário</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>"Diafragma da pelve"</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>Obstetrícia</i>	0	0	0
	<i>"Bioengenharia"</i> AND <i>Ginecologia</i>	3	0	0
TOTAL		35.550	2.512	26

Los artículos fueron analizados con base a determinados criterios de inclusión y exclusión, con el objetivo de dirigir la búsqueda hacia estudios que contengan la información precisa y necesaria para la investigación.

Criterios de inclusión

- Artículos referidos a tratamiento de prolapso de piso pélvico, cáncer de ovario, patologías uterinas, insuficiencia ovárica, SOP e incontinencia urinaria de esfuerzo a través de bioingeniería.
- Artículos enfocados en conservar la fertilidad a través de la ingeniería de tejidos.
- Artículos enfocados en describir biomateriales utilizados en ingeniería de tejidos de aparato reproductor femenino (útero, ovarios y piso pélvico).
- Artículos que refieren descelularización de tejidos en aparato reproductor femenino (útero, ovarios y piso pélvico).
- Artículos referidos respecto a bioimpresión 3D sobre bioingeniería de tejidos para reconstrucción de órganos del aparato reproductor femenino (útero, ovarios y piso pélvico).
- Artículos que utilizaron ratas u ovinos como receptores en la experimentación *in vivo*.

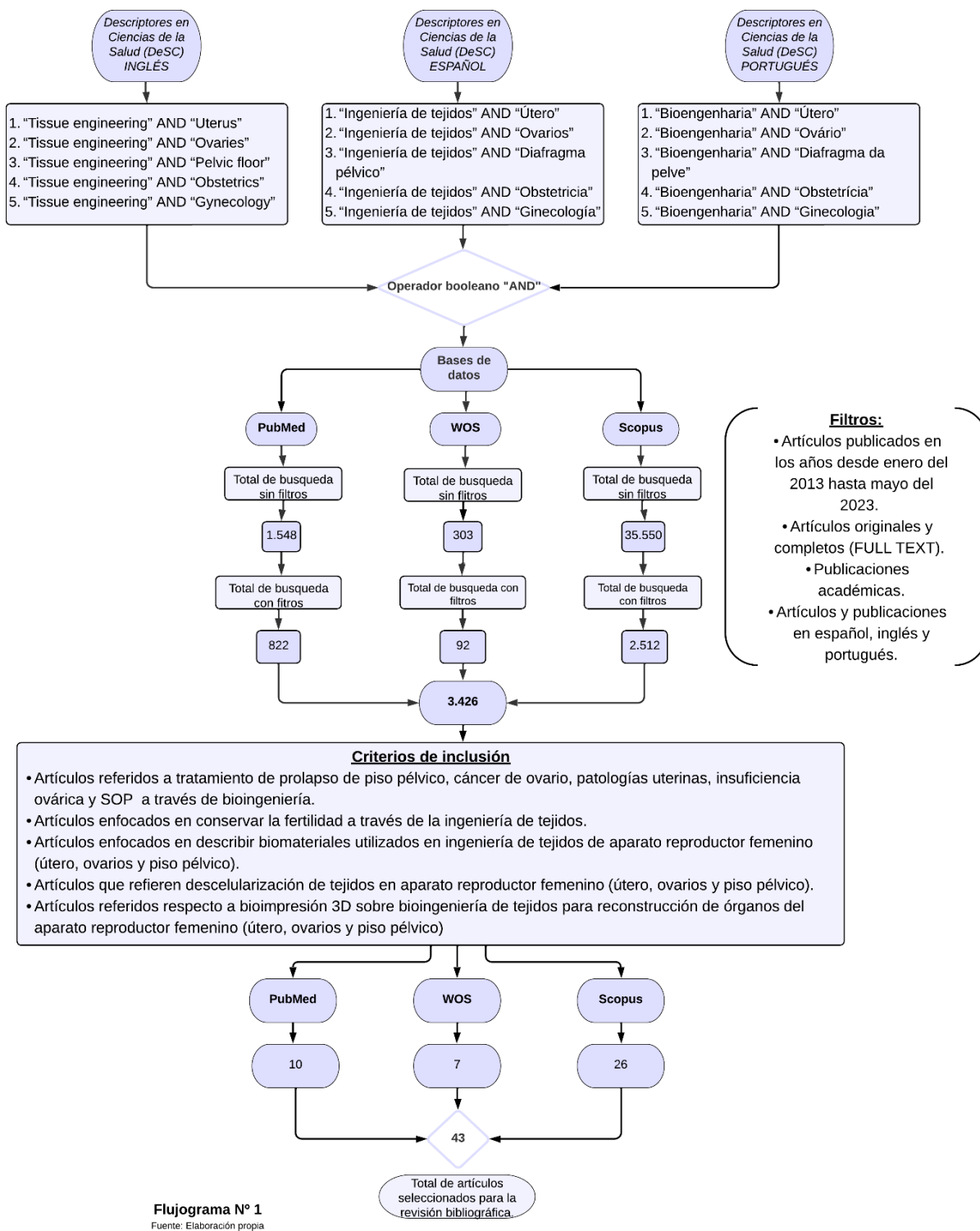
Criterios de exclusión

- Artículos con información repetida en las distintas plataformas.
- Artículos referidos únicamente sobre células madre.
- Artículos de bioingeniería general.
- Artículos de bioingeniería sobre órganos no relacionados con el aparato reproductor femenino (útero, ovarios y piso pélvico).

Al realizar la búsqueda estratégica se obtuvieron un total de 37.401 publicaciones, luego al emplear los filtros resultaron 3.427. Para finalizar, se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión y tras llevar a cabo una lectura crítica, se seleccionaron 43 artículos para el análisis.

El resumen de los principales elementos utilizados en la revisión se puede observar en la figura 2.

Figura 2: Flujograma n°1: Diseño metodológico



Nota. Flujograma del proceso de elección de papers para la revisión.

RESULTADOS

Los resultados de cada estudio fueron descritos en tablas y clasificados según los distintos órganos en los que se enfocó la investigación (útero, ovario y piso pélvico), siendo estos analizados según el título, órgano, objetivo, biomaterial utilizado, especie de experimento, tipo de estudio, descripción del experimento, resultados y conclusiones de los distintos artículos leídos.

Tabla 4: El material de hidrogel de sericina FGF1 diseñado genéticamente trata la adhesión intrauterina y restaura la fertilidad en ratas.

<u>Título</u>	El material de hidrogel de sericina FGF1 diseñado genéticamente trata la adhesión intrauterina y restaura la fertilidad en ratas.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Promover la regeneración endometrial e inhibir la fibrosis endometrial y evaluar el efecto del hidrogel en la restauración de la estructura uterina y la fertilidad.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Hidrogel de sericina FGF1.
<u>Especie de experimento</u>	Ratas.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	<u>- Fabricación de materiales de hidrogel FGF1-SS utilizando fibras de seda genéticamente modificadas:</u> Se usaron gusanos de seda transgénicos para obtener FGF1 y sericina. La cantidad de FGF1 se cuantificó y se crearon hidrogeles tanto con FGF1 como sin él. Ambos hidrogeles contenían 1,2 mg/ml de proteína total, con 1,1 µg/ml de FGF1 en el hidrogel con FGF1. <u>- Microscopía electrónica de barrido:</u> Se utiliza SEM para examinar la capa de platino en el hidrogel de sericina liofilizada y se calcula el tamaño promedio de los poros (50 poros) con el software Image Pro-Plus. <u>- Análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier:</u> Se liofilizó el hidrogel de sericina para eliminar el agua y se realizó un análisis FTIR con un espectrómetro en un rango específico. Se promediaron los resultados de al menos 30 pruebas independientes para cada muestra. <u>- Liberación de FGF1 de fibras de seda e hidrogeles de sericina:</u> Se agrega hidrogel de sericina FGF1 a una placa de 24 pocillos y se mantiene a 37°C. Se toma el sobrenadante de cada pocillo en momentos dados, reemplazándolo con tampón de fosfato fresco, y se determina el contenido de FGF1 en el sobrenadante utilizando ELISA.

	- Medición de la viscosidad del hidrogel de sericina: La medición se realizó en un reómetro con placas paralelas en modo de flujo continuo. Se registró la viscosidad del hidrogel de sericina FGF1 a 25 ° C a una velocidad de corte. - Degradación in vitro de hidrogeles FGF1-SS: Se incubaron muestras de hidrogel de sericina en tampón de fosfato a 37°C, algunas con lisozima. El tampón de fosfato se cambiaba a diario y se retiraron muestras a horas específicas para secarlas y pesarlas. Esto se replicaba tres veces. - Experimentos in vivo con hidrogeles FGF1-SS: Se inyectó hidrogel FGF1-SS en ratas con trastornos uterinos, y se sacrificaron las ratas en diferentes intervalos de tiempo después de la inyección (1, 6, 12, 24, 48 horas, 7 y 14 días). Se realizó un análisis inmunohistoquímico en el útero de las ratas para determinar cuánto tiempo permanecía el hidrogel FGF1-SS en el tejido. - Aislamiento de ESC de rata: Se obtuvieron células madre embrionarias uterinas de ratas gestantes de 9 días y se evaluó su crecimiento y la expresión de la proteína vimentina en un medio específico. También se creó un modelo de lesión en el endometrio dañando algunas de estas células con peróxido de hidrógeno. - Modelo de rata IUA: Se emplearon ratas para un modelo de lesión en el endometrio, dividiéndolas en cinco grupos con diferentes procedimientos y evaluando los efectos del tratamiento en diversas etapas a través de sacrificios y apareamientos en distintos momentos. - Determinación del espesor endometrial: El espesor del endometrio se determina midiendo la distancia a lo largo de una sección transversal de los extremos proximal y distal del endometrio. Se midieron todas las muestras, se tomaron cinco campos de visión para cada sección y se registró el valor promedio. - Prueba de fertilidad: Se llevaron a cabo apareamientos en ratas de diferentes grupos 30 y 60 días después de crear una lesión uterina. Se evaluó la función uterina por su capacidad de quedar embarazadas y el número de fetos en cada útero en el noveno día de gestación. - Análisis histológico e inmunohistoquímico: Las muestras de tejido uterino se procesaron mediante tinciones y técnicas de inmunohistoquímica, examinando características como el grosor del endometrio y las glándulas uterinas, a través de cortes de 4 µm de espesor y análisis de áreas teñidas con anticuerpos específicos. - Reacciones cuantitativas en cadena de la polimerasa en tiempo real: Se extrajo ARN del útero de ratas y se convirtió en ADNc mediante transcripción inversa. Luego, se realizó qRT-PCR para medir la expresión génica, con múltiples pruebas y repeticiones en cada grupo. El experimento se repitió varias veces. - Detección de capacidad de proliferación, migración e infiltración celular: El crecimiento de células madre endometriales (ESC) se evaluó usando el ensayo CCK-8 con hidrogel WT-SS/FGF1-SS. Se midió la absorbancia a 450 nm después de agregar CCK-8, y se repitió el experimento tres veces. La migración de las ESC con el hidrogel se evaluó mediante una cámara Transwell en tres repeticiones.
Resultado	El tratamiento con hidrogel FGF1-SS mejoró la estructura y la función del útero en ratas con lesión. El hidrogel FGF1-SS inhibe la fibrosis endometrial: El hidrogel FGF1-SS demuestra un fuerte efecto inhibitorio sobre la fibrosis uterina, lo que sugiere su potencial terapéutico en la reducción de la fibrosis en este contexto. El efecto inhibitorio del hidrogel FGF1-SS sobre la fibrosis: Los resultados indican que el hidrogel FGF1-SS tiene la capacidad de reducir la expresión de factores pro-fibrosis y aumentar la expresión de factores anti-fibrosis, lo que contribuye a su efecto terapéutico en la inhibición de la fibrosis endometrial en el contexto de la IUA.
Conclusión	El hidrogel FGF1-SS previene la fibrosis uterina al bloquear la vía factor de crecimiento transformador-beta (TGFβ) y restaura la función uterina en ratas. Esto lo hace útil para el tratamiento posoperatorio de la IUA y tiene efectos terapéuticos a largo plazo.
Fuente bibliográfica	Guan, C., Wang, R., Zhang, L., Sun, X., Zhang, D., Wang, H., Xia, H., Xia, Q., & Ma, X. (2022). Genetically engineered FGF1-Serican hydrogel material treats intrauterine adhesion and restores fertility in rat. Regenerative Biomaterials, 9. https://doi.org/10.1093/rb/rbac016

Tabla 5: Ingeniería de hidrogeles adhesivos autorreparantes con propiedades antioxidantes para la prevención de adherencias intrauterinas.

<u>Título</u>	Ingeniería de hidrogeles adhesivos autorreparantes con propiedades antioxidantes para la prevención de adherencias intrauterinas.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Presentar la necesidad de desarrollar hidrogeles como una nueva alternativa para prevenir la adhesión intrauterina y destacar el desarrollo y las características de los hidrogeles adhesivos propuestos como una solución efectiva para la prevención de la adhesión intrauterina.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Hidrogeles autocurativos.
<u>Especie de experimento</u>	Ratas.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Síntesis de Bi-PEG-SS:</u> Se sintetizó el Bi-PEG-SS utilizando una mezcla de polietilenglicol y anhídrido succínico en un proceso de varios pasos. Se mezclaron los reactivos, se purificó el producto y se obtuvo el Bi-PEG-SS en forma de polvo blanco. - <u>Preparación de hidrogel adhesivo inyectable:</u> Se prepararon hidrogeles adhesivos mezclando Bi-PEG-SS y gelatina en varias concentraciones, resultando en diferentes combinaciones de hidrogeles. - <u>Prueba de capacidad de autocuración:</u> Se prepararon hidrogeles adhesivos en forma de disco y tira y se realizaron pruebas de resistencia. También se observaron mediante microscopía óptica y electrónica de barrido - <u>Prueba de reología:</u> Las muestras de hidrogel se sometieron a pruebas reológicas dinámicas, incluyendo la deformación de corte y la eliminación de esta. El proceso se realizó a 25°C y se repitió dos veces. - <u>Prueba de propiedades mecánicas:</u> Se crearon hidrogeles cilíndricos y tiras, que luego fueron cortados y reparados en sus sitios de fractura. Estos hidrogeles reparados se sometieron a pruebas de compresión y tracción utilizando una máquina de tensión universal. - <u>Prueba de índice de hinchamiento y tiempo de degradación <i>in vitro</i>:</u> Los hidrogeles adhesivos se sumergieron en tampón de fosfato y se incubaron a 37°C. Después de 48 horas, se midieron los pesos para evaluar el hinchamiento, y los hidrogeles se sometieron a un perfil de degradación durante 7 días con mediciones de peso diario. - <u>Prueba de fuerza de adhesión:</u> Se probó la resistencia adhesiva de los hidrogeles inyectados en piel de cerdo. Tras aplicar y fusionar las piezas de piel, se incubaron durante 30 minutos a 37°C. Luego, se evaluó la resistencia adhesiva con cinco muestras replicadas por formulación mediante una máquina de prueba electrónica universal. - <u>Prueba de inyectabilidad y adecuación de la forma:</u> Se prepararon diversos hidrogeles y se inyectaron en moldes con diversas formas a través de catéteres largos. Luego, se retiraron, trituraron y mezclaron en un molde en forma de árbol. Para probar la inyección en el estómago de ratas, los hidrogeles se inyectaron en el estómago de las ratas y se observaron después de 10 minutos. En el grupo del balón, se infló un globo en el estómago para sostenerlo. - <u>ABTS + ensayo de eliminación de radicales:</u> Se incubó una solución de radical ABTS+ durante 12 horas, y luego se probó diferentes masas de P10G20 y ácido ascórbico en esta solución. La actividad eliminadora de radicales ABTS+ se midió por la disminución de la absorbancia a 734 nm, calculando el porcentaje de eliminación en comparación con el control. Se repitió tres veces para cada concentración. - <u>Ensayo de eliminación de radicales DPPH:</u> Se disolvió el radical DPPH en metanol, se mezclaron distintas cantidades de P10G20 y VC en esta solución, y se midió la absorbancia a 517 nm para

	calcular la eliminación de radicales DPPH en comparación con el control, con tres repeticiones para cada concentración. - Ensayo de eliminación de radicales hidroxilo: Se generaron radicales hidroxilo por reacción de tipo Fenton y se mezclaron con P10G20 y VC. Luego, se midió la absorbancia a 510 nm, calculando la eliminación de radicales hidroxilo en comparación con el control. Este proceso se repitió tres veces para cada concentración. - Experimentos antioxidantes con células: Se evaluó la capacidad de P10G20 para proteger células de estrés oxidativo en fibroblastos de ratón. Las células se cultivaron y se les indujo estrés oxidativo. - Pruebas de biocompatibilidad <i>in vitro</i>: Se evaluó la citotoxicidad de P10G20 en células NIH 3T3 utilizando soluciones de lixiviación y degradación en diferentes concentraciones. La funcionalidad celular se midió después de 24 y 48 horas con CCK8 y tinción de células vivas/muertas. Cualquier actividad metabólica superior al 70% se demostró no citotóxica. Además, se realizó una tinción de células vivas/muertas y se observó la viabilidad y adhesión celular con un microscopio de fluorescencia invertido. - Prueba de hemólisis <i>in vitro</i>: Se prepararon diferentes concentraciones de contenido de lixiviación de P10G20 y se mezclaron con suspensión de eritrocitos. Se realizaron controles positivos y negativos. Tras 1.5 horas a 37°C, se midió la absorbancia de las muestras a 540 nm. - Prueba de biocompatibilidad <i>in vivo</i>: En ratas, se realizó una incisión en el abdomen para exponer el útero. El útero izquierdo se trató con hidrogeles, mientras que el derecho sirvió como control. Después de un tiempo, se examinaron los úteros para evaluar morfología y fibrosis endometrial mediante tinciones H&E y Masson. - Experimentos de anti-adhesión <i>in vivo</i>: Se indujo la adhesión uterina en ratas y se dividieron en grupos de solución salina, tratamiento P10G20 y grupo sano. Se realizaron cirugías y, después de 7 días, se examinaron los tejidos uterinos para evaluar cambios patológicos mediante tinciones H&E y Masson. - Pruebas de antioxidantes <i>in vivo</i>: Las propiedades antioxidantes se evaluaron midiendo el contenido de H₂O₂ en el tejido uterino en varios días postcirugía mediante el ensayo FOX1. El tejido se homogeneizó, se mezcló con reactivos FOX1 y se midió la absorbancia para calcular el contenido de H₂O₂ con una curva estándar de referencia. - Extracción de ARN, transcripción inversa y PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR): Las ratas fueron sacrificadas 1, 3 y 7 días después de la cirugía y se extirparon los tejidos uterinos. Después de eso, los tejidos uterinos se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido en 30 minutos.
Resultado	P10G20 mostró una estabilidad superior en comparación con otras mezclas, siendo las concentraciones elegidas para los experimentos P10G15, P10G20 y P10G25. Los hidrogeles autorreparantes son inyectables y se adaptan a la cavidad uterina, incluso si se rompen durante la inyección, lo que los hace adecuados para prevenir la adhesión intrauterina al inyectarlos a través del canal cervical. P10G20 derivado de gelatina, muestra propiedades antioxidantes al eliminar radicales ABTS⁺, DPPH y radicales hidroxilo en dosis dependientes. Esto sugiere su potencial para reducir la fibrosis uterina contrarrestando los radicales libres ligados al estrés oxidativo. Las pruebas demostraron una baja hemólisis y no afectó la viabilidad celular, con valores superiores al 70%, respaldando su seguridad como adhesivo biomédico. P10G20 fue implantado en úteros de ratas y evaluado durante 3, 7 y 14 días. No provocó inflamación, cambios en el endometrio ni aumento en el área de fibrosis, demostrando su excelente biocompatibilidad y seguridad para su uso <i>in vivo</i>. P10G20 fue probado en un modelo de rata con IUA inducida. Después del tratamiento, se observó que P10G20 evitó el adelgazamiento del útero, redujo la fibrosis y mantuvo el tejido uterino en un estado similar al tejido sano, demostrando su eficacia terapéutica. P10G20 exhibió propiedades antioxidantes en experimentos <i>in vitro</i> y redujo el estrés oxidativo en un modelo de rata, lo que podría ayudar a reducir la formación de adherencias al comienzo de la cicatrización de heridas.
Conclusión	En este estudio, se desarrolló un adhesivo de hidrogel con Bi-PEG-SS y gelatina para prevenir la adhesión intrauterina. El hidrogel demostró autorreparación, inyectabilidad y compatibilidad con tejidos, además de prevenir la adhesión intrauterina en estudios en roedores. A pesar de su potencial, se requiere ampliar el rango de degradación y realizar estudios en animales más grandes antes de su aplicación clínica.

Fuente bibliográfica	Li, F., Wang, L., Ma, Y., Duan, W., Martin-Saldaña, S., Zhu, Y., Zhang, X., Zhu, B., Li, C., Hu, S., Bao, M., Wang, T., Zhu, Y., Yang, F., & Bu, Y. (2023). Engineering self-healing adhesive hydrogels with antioxidant properties for intrauterine adhesion prevention. <i>Bioactive Materials</i> , 27, 82-97. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.03.013
-----------------------------	---

Tabla 6: Una combinación de tratamientos físicos y químicos es más eficaz en la preparación de armazones uterinos acelulares.

Título	Una combinación de tratamientos físicos y químicos es más eficaz en la preparación de armazones uterinos acelulares.
Órgano	Útero.
Objetivos	Comparar diferentes protocolos para lograr el método de descelularización del útero óptimo para futuros experimentos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> experimentos de bioingeniería.
Biomaterial utilizado	Úteros descelularizados.
Especie de experimento	Ratas.
Tipo de estudio	Estudio experimental.
Descripción del experimento	Se utilizaron cuatro protocolos diferentes (P1, P2, P3 y P4) para la descelularización de los tejidos uterinos. En P1 y 2 Lavado con solución tamponada con fosfato a 25°C y se sumergieron en dodecilsulfato de sodio (1%) por 2 horas (P1) y por 4 horas (P2) a temperatura ambiente; y finalmente también fueron lavadas por 7 días (P1) y 10 días (P2) usando un tampón de Hexahidrato de cloruro de magnesio, DNasa I, NaCl y penicilina a 4°. En P3 se inyectó heparina y se canuló la aorta abdominal. Se realiza perfusión de heparina/tampón de fosfato. Se realiza la extracción de muestra de cuerno uterino y los parches se remojan en 3 dosis diferentes de dodecilsulfato sódico 0,01%/ 0,1%/ 1% por 24 horas. Luego las muestras fueron lavadas con tampón de fosfato 3 veces por 5 minutos, dodecilsulfato sódico cada 24 horas. Finalmente se empaparon en 1% Triton X-100 durante 30 minutos, tampón de fosfato salino 10 minutos por 3 veces. En P4 se realiza inyección de heparina, se disecciona e inserta jeringa con NaCl en el corazón y se corta aurícula derecha, se extirpan cuernos uterinos y se elimina tejido conectivo y grasa y se lava con pbs; y se congela el útero -20°C 1-7 días. Descongelación del útero y perfusión dodecilsulfato de sodio 1% por 6 horas y con tampón de fosfato salino por 1 hora. En los primeros 2 días se utiliza dodecilsulfato de sodio 1% por 6 horas y tampón de fosfato salino 18 horas; al tercer, cuarto y quinto día dodecilsulfato de sodio 1% x 2 horas, tampón de fosfato salino 10 minutos, Triton X-100 1% x 2 hrs y tampón de fosfato salino 20 horas.
Resultado	En P1 todavía tenían residuos celulares y ADN en comparación con la muestra nativa. En P2 el número de restos celulares y ADN disminuyó, pero el citoplasma celular se mantuvo. En P3 se encontró una menor cantidad de ADN y más eficiente para la eliminación celular las fibras de colágeno estaban disminuidas; sin embargo, no se observó daño en los haces de colágeno utilizando otros protocolos. En P4 los residuos celulares se eliminaron por completo. Los resultados en los Ensayos indirectos de MTT mostraron que la viabilidad celular lograda por todos los protocolos utilizados fue significativamente mayor que las de las muestras nativas. Y mostraron que 24 horas después de la incubación, los andamios acelulares de todos los protocolos no inhibieron el crecimiento de las células cocultivadas, sino que promovieron la proliferación celular. El porcentaje de hemólisis de glóbulos rojos en los 4 protocolos fue inferior al 2 %. Las propiedades mecánicas

	demostraron que en ninguno de los andamios obtenidos fueron significativamente diferentes de las de la muestra nativa, excepto P3. Histología y el análisis FESEM mostraron que en los protocolos 1, 2 y 4 las proteínas de la matriz extracelular descelularizada conservaron su integridad estructural durante la descelularización, pero durante el proceso de descelularización y redujo los haces de colágeno en P3 (significativamente menor en comparación con la muestra normal).
<u>Conclusión</u>	El útero descelularizado con una combinación de tratamientos físicos y químicos (P4) fue el tratamiento más favorable en nuestro estudio con la eliminación completa del residuo celular, la preservación de la estructura tridimensional, la eliminación completa de los detergentes y la preservación de las propiedades mecánicas del útero.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Masoomikarimi, M., Salehi, M., Noorbakhsh, F., & Rajaei, S. (2023). A Combination of Physical and Chemical Treatments Is More Effective in The Preparation of Acellular Uterine Scaffolds. Cell journal, 25(1), 25–34. https://doi.org/10.22074/cellj.2022.8396

Tabla 7: Las células madre mesenquimales establecen un medio inmunológico favorable a la regeneración después del trasplante de tejido de útero de rata descelularizado.

<u>Título</u>	Las células madre mesenquimales establecen un medio inmunológico favorable a la regeneración después del trasplante de tejido de útero de rata descelularizado.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Analizar la modulación inmunitaria posterior al trasplante en reemplazo de tejido uterino recelularizado con células madre mesenquimales de ratas y su grupo de control sin recelularización.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Andamios de tejido uterino descelularizado de rata tratados enzimáticamente con o sin recelularización con células madre mesenquimales derivadas de médula ósea de rata.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental controlado.
<u>Descripción del experimento</u>	Se utilizaron 20 ratas como donantes de tejido uterino para 37 ratas, las cuales se dividieron en 2 grupos. Un primer grupo, que recibió un andamio de tejido uterino recelularizado con células madre mesenquimales y un segundo grupo con el andamio de tejido uterino sin células añadidas. - <u>Preparación de andamios y recelularización:</u> Los tejidos uterinos de las ratas donantes fueron descelularizados mediante perfusión vascular con dimetilsulfóxido y Triton X-100 en ciclos de perfusión por 5 días. Los úteros descelularizados fueron cortados en piezas de 20 mm x 10 mm y fueron tratados enzimáticamente para aumentar su porosidad. 19 de los 37 andamios se recelularizaron con células madre mesenquimales derivadas de médula ósea de rata marcadas con proteína fluorescente verde, y fueron incubados por 2 semanas. - <u>Trasplante:</u> A las 37 ratas se les extirpó un pedazo de tejido uterino, el que fue reemplazado con los andamios previamente preparados. Los animales fueron eutanasiados en 3 grupos: a los 14, 30 y 120 días. - <u>Evaluación de inmunohistoquímica y la cuantificación de la infiltración de células inmunitarias:</u> Se fijaron muestras de cada injerto, además de 6 ratas como grupo de control. Se midió la

	inmunohistoquímica con un kit de tinción con fosfatasa alcalina libre de biotina y un Kit Vulcan Fast Red, además de tinción fluorescente con anticuerpos primarios y secundarios. - Muestras de sangre y análisis de plasma: Toma de muestras de sangre a los 3, 7, 14, 30 y 120 días post cirugía en las ratas con andamios recelularizados y ratas del grupo de control. Se analizó el perfil de citoquinas con un panel de inmunoensayo de inflamación.
Resultado	No se observaron discrepancias macroscópicas entre ambos injertos, mientras que, a nivel microscópico, se apreció un mejor resultado en los injertos recelularizados. Los resultados de los análisis sanguíneos sugieren que las células madre mesenquimales contribuyeron a la reducción de los leucocitos infiltrados durante el primer mes posoperatorio y sesgaron el sistema inmunológico permitiendo una mejor regeneración al reducir la población de células inmunitarias y los niveles plasmáticos antiinflamatorios de interleuquinas. Un obstáculo importante es que la recelularización se localizó principalmente en capas superficiales de los armazones y en algunas áreas celularmente más densas.
Conclusión	En general, el estudio mostró que las células madre mesenquimales pueden desempeñar un papel terapéutico importante para crear un microambiente inmunológico pro-regenerativo junto con el trasplante de tejido uterino descclularizado, aunque faltan estudios que complementen los resultados inmunitarios.
Fuente bibliográfica	Sehic, E., Thorén, E., Gudmundsdottir, I., Oltean, M., Brännström, M., & Hellström, M. (2022). Mesenchymal stem cells establish a pro-regenerative immune milieu after decellularized rat uterus tissue transplantation. <i>Journal of Tissue Engineering</i>, 13, 204173142211188. https://doi.org/10.1177/20417314221118858

Tabla 8: Alo- y xeno reensamblaje de miometrio humano y de rata a partir de células y andamios.

Título	Alo- y xeno reensamblaje de miometrio humano y de rata a partir de células y andamios.
Órgano	Útero.
Objetivos	Investigar la fisiología de los miocitos y el miometrio humanos. De manera similar, aislar y modificar la estructura para crear un método que prueba la contribución de la estructura a la contractilidad miometrial.
Biomaterial utilizado	Tejido miometrial humano y de rata.
Especie de experimento	Rata.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	- Recolección de tejidos: El miometrio humano se obtuvo de biopsias de mujeres que se sometían a cesárea a término y el miometrio de rata se obtuvo de ratas Charles River preñadas que tenían 20 y 21 días de gestación. - Descelularización de tejido humano: El tejido se cortó en tiras, las cuales se expusieron a etanol al 70%, luego se eliminó el etanol y se reemplazó por agua destilada, los restos celulares se eliminaron con tripsina al 0,25% (esta solución se eliminó mediante un lavado), finalmente se neutralizó la tripsina

	con un medio de cultivo que contenía suero fetal bovino al 10%, penicilina y estreptomycin, además se almacenó en una solución de tampón con fosfato salino. - Descelularización de tejido de rata: El tejido fue recortado en rectángulos, se suturó en cada esquina con una seda y se realizó el mismo procedimiento descrito en la descelularización de tejido humano. - Aislamiento de miocitos humanos y de rata (dispersión): El tejido miometrial humano y de rata se lavó con un tampón de fosfato salino que contenía calcio y magnesio para eliminar sangre y restos celulares, luego esta solución fue eliminada con una solución de Hank sin calcio y magnesio y esta a su vez fue eliminada con una solución llamada Liberase-Research Grade, se dejó que el tejido y células se asentaron, finalmente a los tejidos se añadió suero fetal bovino al 10% y las células se liberaron por trituración. Después de este procedimiento se iniciaron diez líneas celulares de miometrio humano y cinco líneas celulares de miometrio de rata. - Cultivo monocapa: Las células se mantuvieron en cultivo con 37°C y 5% de CO₂ y los cultivos fueron cambiados cada 3 a 4 días. - Cultivo tridimensional: Las células se resuspendieron en medios de alta densidad de células (medio solo contiene una línea celular). Los andamios de rata adoptaron una forma de hamaca por las suturas que poseían y se mantuvieron en el medio por 1h para que las células se adhirieran al tejido y luego fueron sumergidas completamente en el medio y sometidas a un agitador de placas, con el andamio humano se realizó el mismo procedimiento y con este último paso se espera mejorar la viabilidad celular en las profundidades del andamio.
Resultado	Las células humanas se adhirieron y crecieron en capas delgadas sobre la superficie de los andamios de miometrio, pero luego se desprendieron, retrajeron y no alcanzaron una capa gruesa ni profunda en el andamio, también se observó una incapacidad de contracciones coordinadas en el aloneomiometrio (tejido con componentes de la misma especie). Por otro lado, cuando las células humanas se colocaron en el andamio de rata, los miocitos crecieron y formaron capas multicelulares en la superficie, además se observaron células en capas profundas del andamio, lo que demostró que el xenoneomiometrio (tejido con componentes de especies distintas) tenía una integridad estructural y excelente viabilidad celular además de contracciones coordinadas.
Conclusión	Los miocitos humanos penetraron en el armazón de ratas, proporcionando una prueba de principio para la creación de injertos de xenoneomiometrio. Los miocitos humanos en soportes de rata expresaron contracciones coordinadas y también proporcionaron un modelo novedoso para el estudio de la contractilidad miometrial.
Fuente bibliográfica	Young, R. C., & Goloman, G. (2013). Allo- and Xeno-Reassembly of human and rat myometrium from cells and scaffolds. Tissue Engineering Part A, 19(19-20), 2112-2119. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0549

Tabla 9: Diseño y caracterización de andamios nanofibrosos de policaprolactona conjugada con maltosa para ingeniería de tejido uterino.

Título	Diseño y caracterización de andamios nanofibrosos de policaprolactona conjugada con maltosa para ingeniería de tejido uterino.
Órgano	Útero.
Objetivos	Demostrar que las nanofibras de policaprolactona (PCL) son efectivas en la ingeniería de músculos lisos.
Biomaterial utilizado	Nanofibras de policaprolactona (PCL).

<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Fabricación de nanofibras de PCL:</u> Se preparó una solución de policaprolactona al 10% en proporciones 8:2 de cloroformo y metanol, las nanofibras se sintetizaron por medio de una máquina de electro hilado y el producto fue almacenado en un desecador de vacío para su posterior caracterización. - <u>Modificación de superficies de nanofibras:</u> Las nanofibras de policaprolactona fabricadas se modificaron en la superficie mediante un método de química húmeda de dos pasos, para el injerto de amina, se empaparon los discos de PCL con 1,6-hexanodiamina al 10% preparada en 10 ml de isopropanol, posteriormente se realizó una glicosilación para conjugar maltosa en los andamios aminados, para esto se añadió un tampón de citrato, maltosa y cianoborohidruro de sodio, finalmente se enjuagaron con agua destilada. - <u>Caracterizaciones fisicoquímicas de los andamios modificados:</u> Primero se midió la hidrofiliidad de los discos de PCL electrohilados, aminolizados (APCL) y de maltosa (MPCL) utilizando un goniómetro, luego se analizó la presencia de grupos amina utilizando un ensayo de ninhidrina, para cuantificar la presencia de restos de carbohidratos, se realizó el ensayo de lectina ligada a enzima (ELLA) y finalmente la modificación de la superficie fue confirmada por espectroscopía FTIR. - <u>Cultivo de fibroblastos uterinos humanos:</u> Los fibroblastos uterinos humanos se cultivaron en medio de crecimiento de medio basal de fibroblastos con kit de crecimiento de fibroblastos, suero, penicilina al 1% y estreptomycin, mantenido a 37 °C en dióxido de carbono al 5%. En este procedimiento se cultivaron fibroblastos uterinos humanos confluentes y se sembraron en soportes de superficie modificada para estudios posteriores. - <u>Siembra de células en andamios:</u> Las nanofibras PCL electrospun se esterilizaron, luego se colocaron armazones de PCL, PCL aminolizada (APCL) y PCL de maltosa (MPCL) en una placa de 48 pocillos y se sembraron alrededor de 50.000 células para estudios de adhesión y proliferación celular y 10.000 células para estudios microscópicos. Se utilizó poliestireno de cultivo de tejidos (TCPS) como control y el medio de crecimiento se cambió cada dos días. - <u>Adhesión y proliferación celular:</u> Las muestras se lavaron con solución de tampón fosfato salino y se añadió reactivo MTT (100 µl) a cada una de las muestras y se incubaron durante 4 h. Después de la incubación, la reacción se detuvo mediante la adición de 200 µl de DMSO (dimetilsulfóxido) de sodio y se midió la absorbancia. - <u>Ensayo de viabilidad celular:</u> La viabilidad celular de las células sembradas en soportes se evaluó mediante un ensayo de vivos/muertos, que es un ensayo de tinte fluorescente de dos colores que marca de manera diferencial las células. - <u>Tinción con filamentos de actina:</u> Para la tinción del citoesqueleto con actina, los armazones se sembraron con células, se fijó con paraformaldehído al 4%, permeabilizado con Tritón -X100 al 0,3%, bloqueado con albúmina sérica bovina (BSA) al 3%. Luego, los armazones se incubaron con rodamina-faloidina a temperatura ambiente y se tiñeron con un tinte fluorescente para tinción nuclear y se tomaron imágenes con un microscopio de fluorescencia.
<u>Resultado</u>	Las células de fibroblastos uterinos humanos (HUF) mostraron una proliferación significativa en los armazones de PCL modificados con maltosa, y también exhibieron una morfología apropiada que indica que estas fibras modificadas son muy adecuadas para el crecimiento de las células uterinas.
<u>Conclusión</u>	Los resultados indicaron que los andamios fabricados de PCL de maltosa (MPCL) serían un biomaterial potencial para tratar lesiones uterinas y promover la regeneración.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Hanuman, S., & Nune, M. (2021). Design and Characterization of Maltose-Conjugated Polycaprolactone Nanofibrous Scaffolds for Uterine Tissue Engineering. Regenerative Engineering and Translational Medicine, 8 (2), 334-344. https://doi.org/10.1007/s40883-021-00231-0

Tabla 10: El tejido uterino de bioingeniería apoya el embarazo en un modelo de rata.

<u>Título</u>	El tejido uterino de bioingeniería apoya el embarazo en un modelo de rata.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Crear parches uterinos derivados de tres protocolos de descelularización diferentes.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Útero descelularizado.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	· <u>Descelularización del útero:</u> Las muestras P1 y P2 se descelularizaron a partir de perfusiones uterinas secuenciales a través de la aorta con Triton X-100 tamponado y sulfóxido de dimetilo, seguido de un lavado en solución salina tamponada con fosfato; las muestras P3, la perfusión se realizó con una solución de desoxicolato de sodio al 2% seguido de un lavado con agua destilada, estos procedimientos se repitieron y al quinto día se realizó el proceso de esterilización con ácido peracético. · <u>Aislamiento de células del útero:</u> Las ratas se sometieron a histerectomía y se extrajo tejido del útero, específicamente los cuernos que fueron colocados en solución salina tamponada con fosfato frío y posteriormente en una placa Petri que contenía una solución de digestión. · <u>Trabajo in vitro y recelularización de andamios:</u> Tres úteros descelularizados fueron descongelados y lavados con agua destilada, luego lavados con una solución salina tamponada con fosfato y (DMEM), para la recelularización se usaron células uterinas primarias de útero de rata y células madre mesenquimales derivadas de médula ósea de rata para desarrollar construcciones de tejidos uterinos en órganos defectuosos. · <u>Trasplante de parche:</u> A las ratas se les extirpó quirúrgicamente un segmento del cuerno uterino para crear un defecto y posteriormente se trasplantó un parche acelular en el lugar de dicho defecto y en otro grupo un parche recelularizado. · <u>Evaluación de apareamiento y preñez:</u> Se aparearon animales que habían sido sometidos al trasplante de parche y otro grupo que no fue sometido a ningún procedimiento, luego de 16-20 días del apareamiento se analizaron los tejidos morfológicamente, inmunohistoquímicamente, mediante PCR cuantitativa y se cuantificó el ADN/ARN.
<u>Resultado</u>	La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) cuantitativa y la inmunohistoquímica arrojaron que existía un tejido similar al útero en los parches trasplantados. En relación con el embarazo de las ratas, los grupos tratados con Triton X-100 tuvieron un desarrollo fetal normal, en cambio el grupo tratado con desoxicolato de sodio mostró una reducción en el número de fetos y en el desarrollo fetal.
<u>Conclusión</u>	Las células uterinas primarias y MSC ayudaron en la reconstrucción de tejido uterino descelularizado, por otro lado, los parches hechos de Triton X-100 y generados por DMSO fueron de apoyo en el embarazo de las ratas.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Hellström, M., Moreno-Moya, J. M., Bandstein, S., Bom, E., Akouri, R., Miyazaki, K., Maruyama, T., & Brännström, M. (2016). Bioengineered uterine tissue supports pregnancy in a rat model. <i>Fertility and Sterility</i> , 106(2), 487-496. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.03.048

Tabla 11: Un andamio endometrial uterino descelularizado mejora la regeneración del endometrio en ratas.

<u>Título</u>	Un andamio endometrial uterino descelularizado mejora la regeneración del endometrio en ratas.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Regenerar todo el endometrio en ratas utilizando un andamio endometrial descelularizado (DES).
<u>Biomaterial utilizado</u>	Andamio endometrial descelularizado (DES).
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción de experimento</u>	- <u>Colección endometrio uterino de rata:</u> Por incisión abdominal se despegó todo el endometrio de forma tubular. - <u>Descelularización del endometrio uterino:</u> El endometrio extraído se cortó en segmentos de 1,5 cm y se descelularizó utilizando Dodecilsulfato sódico (SDS). - <u>Trasplante de andamio endometrial descelularizado:</u> Se realizó una incisión longitudinal en el abdomen de las ratas receptoras bajo anestesia. Se eliminó el endometrio. Se insertó un tubo de silicona esterilizado en el lumen de un DES cilíndrico (T+D) para distender el lumen y prevenir adherencias, se colocó en el sitio deficiente de endometrio de un cuerno uterino unilateral en ratas receptoras. Como control se colocó un tubo de silicona solo (T) de manera similar en el cuerno uterino contralateral, posterior la capa muscular y serosa se suturaron continuamente para cubrir el área injertada. - <u>Análisis histológicos y fluorescentes:</u> Para el análisis histológico se realizó tinción con hematoxilina y eosina(H&E).
<u>Resultado</u>	Se extirparon los úteros tratados un mes después, macroscópicamente cada cuerno tratado con solo tubo (T) o T+D (tubo más andamio endometrial descelularizado) lucia normal. La tinción de H&E mostró la preservación de estructuras similares a la luz en los grupos T+D y T. El área del estroma y el número de células fueron mayores en el cuerno uterino tratado con T+D. La relación entre el área de la región del estroma y el área total fue significativamente mayor para el grupo T+D. Aunque se regeneró con éxito los componentes del estroma del endometrio circunferencialmente usando andamio endometrial descelularizado, el endometrio regenerado carecía de epitelio luminal y glandular.
<u>Conclusión</u>	Se descubrió que el andamio endometrial descelularizado podía mejorar la regeneración circunferencial del estroma endometrial, pero tenía poca o ninguna capacidad para inducir la epitelización dentro del mes post trasplante. La prevención de adherencias permitió que el estroma endometrial se regenerará circunferencialmente incluso en ausencia del andamio endometrial descelularizado, aunque en menor grado que en presencia del andamio endometrial descelularizado. El uso de andamio endometrial descelularizado junto con estrategia para prevenir adherencias puede ser beneficioso para la regeneración del endometrio.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Yoshimasa, Y., Takao, T., Katakura, S., Tomisato, S., Masuda, H., Tanaka, M., & Maruyama, T. (2023). A decellularized uterine endometrial scaffold enhances regeneration of the endometrium in rats. International Journal of Molecular Sciences, 24(8), 7605. https://doi.org/10.3390/ijms24087605

Tabla 12: La regeneración endometrial mediante técnicas de trasplante de láminas celulares en ratas facilita el éxito de fertilización y embarazo.

<u>Título</u>	La regeneración endometrial mediante técnicas de trasplante de láminas celulares en ratas facilita el éxito de fertilización y embarazo.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Regenerar tejido endometrial funcional utilizando técnicas de "lámina celular" como enfoque de medicina regenerativa para abordar los trastornos endometriales que causan infertilidad por factor femenino.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Láminas celulares derivadas del útero de ratas.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Preparación de láminas de células endometriales:</u> Para la producción de láminas celulares adyacentes con el propósito de regenerar tejido endometrial y lograr la formación de endometrio nativo y funcional mediante el trasplante, se emplearon úteros de ratas en este estudio. El miometrio fue extraído, y posteriormente, el tejido endometrial fue tratado con tripsina y EDTA. Se llevaron a cabo procedimientos para aislar células endometriales, siendo las células epiteliales sembradas en injertos y las células estromales en placas. La confirmación de la actividad de fluorescencia de GFP se realizó mediante microscopía fluorescente. - <u>Trasplante de láminas celulares:</u> Se abrió el útero de una rata y se eliminó la capa endometrial. En el grupo de trasplante, se implantó una lámina de células endometriales con tres capas. Se empleó microscopía fluorescente para confirmar la ubicación de las células trasplantadas. - <u>Experimento de fertilidad del apareamiento de ratas:</u> Cuatro semanas después de la cirugía se confirmó que en el grupo de trasplante no había obstrucción del endometrio. Dos semanas después, se aparearon con machos y el embarazo se confirmó mediante ecografía. - <u>Se analizó histología e inmunohistoquímica:</u> se analizaron las áreas de la lámina de células trasplantadas mediante observaciones macroscópicas.
<u>Resultado</u>	Posterior al trasplante de láminas celulares, los endometrios regenerados fueron confirmados de manera visual por análisis histopatológicos como inyectores GFP-positivo. Después de los cruzamientos, las áreas de tejido GFP-positivas, los fetos vivos y abortados fueron observados en el grupo trasplante, lo que demuestra que los óvulos fertilizados se implantaron en el endometrio positivo para GFP, aunque no hay certeza de que el embarazo fue en úteros regenerados utilizando colágeno o tejido descelularizado.
<u>Conclusión</u>	El trasplante de láminas celulares puede regenerar tejido endometrial con estructura histológica, fisiológicamente funcional y con capacidad para sustentar embarazos de manera similar a los tejidos endometriales normales. El empleo de este método de trasplante en humanos con desórdenes endometriales podría dar lugar a una nueva terapia contra la infertilidad uterina.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Kuramoto, G., Shimizu, T., Takagi, S., Ishitani, K., Matsui, H., & Okano, T. (2018). Endometrial regeneration using cell sheet transplantation techniques in rats facilitates successful fertilization and pregnancy. Fertility and sterility, 110(1), 172–181.e 4. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.007

Tabla 13: Comparación de las características de las MEC derivadas de la membrana amniótica, el endometrio y la orina y sus efectos sobre la regeneración endometrial en un modelo de lesión uterina en rata.

<u>Título</u>	Comparación de las características de las MEC derivadas de la membrana amniótica, el endometrio y la orina y sus efectos sobre la regeneración endometrial en un modelo de lesión uterina en rata.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Analizar las características de las microestructuras y composiciones de los tejidos para confirmar diferencias específicas entre los tres tipos de ECM.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Matrices extracelulares descelularizadas (d-ECM) derivadas de endometrio (dE-ECM), membrana amniótica placentaria (dA-ECM) y orina (dU-ECM).
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Preparación del d-ECM (matrices extracelulares descelularizadas)</u>: Con el fin de reparar lesiones endometriales derivadas de endometrio (dE-ECM), membrana amniótica placentaria (dA-ECM) y orina (dU-ECM). Se obtuvieron muestras de tejido endometrial y del tracto urinario de ratas, y se recolectaron tejidos de la membrana amniótica (MA) de ratas con una gestación normal. Luego se procesa la matriz celular descelularizada del tejido urinario (dU-ECM), matriz extracelular descelularizada del líquido amniótico (dA-ECM) y matriz extracelular de la placenta (ECM-dA). - <u>Caracterización de matrices extracelulares descelularizadas</u>: A través de tinción, microscopía, análisis cuantitativo de ADN y cuantificación del contenido de GAG y de colágeno y detección de factores activos residuales en las matrices extracelulares descelularizadas. - <u>Efectos de las MEC</u>: Principalmente sobre las funciones de proliferación y secreción de las células estromales. - <u>Creación del modelo</u>: Se realizaron procedimientos quirúrgicos en la cavidad abdominal y se administraron antibióticos después de la cirugía. Luego se hizo un análisis de respuesta inflamatoria. - <u>Determinación de la regeneración de la estructura endometrial</u>: Para esto se aparearon ratas hembra y machos, y se comprobó el embarazo mediante la presencia de un tapón vaginal. Luego se sacrificaron ratas experimentales a los 14 días de la concepción y se examinaron en busca de embriones en el área de la lesión. Finalmente se realizó un análisis morfo lógico y de respuesta inflamatoria y regeneración endometrial.
<u>Resultado</u>	La implantación de células endometriales derivadas de endometrio de la membrana amniótica resultó ser más segura y confiable. Aunque todas las matrices extracelulares descelularizadas tuvieron efectos beneficiosos en la reparación de tejidos, la matriz extracelular descelularizada del líquido amniótico mostró el mejor efecto en la regeneración endometrial, especialmente en la etapa temprana debido a su capacidad antiinflamatoria y anti fibrótica. Sin embargo, la células endometriales derivadas de endometrio, a pesar de ser específica del tejido, podría interferir con las respuestas inflamatorias en la etapa inicial de reparación.
<u>Conclusión</u>	Las d-ECM de diferentes tejidos mostraron diferencias estructurales y de composición que afectaron las características biológicas. La elección adecuada de d-ECM debe considerar las necesidades específicas del proceso de reparación de tejidos en diferentes momentos y lugares.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Ji, W., Wen, J., Lin, W., He, P., Hou, B., & Quan. (2022). Comparing the characteristics of amniotic membrane-, endometrium-, and Urinary-Derived ECMs and their effects on endometrial regeneration in a rat uterine injury model. <i>Frontiers in Bioengineering and Biotechnology</i> . https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.861496

Tabla 14: Un hidrogel de gelatina/sericina inyectable cargado con células madre mesenquimales del cordón umbilical humano para el tratamiento de la lesión uterina.

<u>Título</u>	Un hidrogel de gelatina/sericina inyectable cargado con células madre mesenquimales del cordón umbilical humano para el tratamiento de la lesión uterina.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Crear un hidrogel inyectable con gelatina de metacrilato y un hidrogel de metacrilato para entregar células madre mesenquimales de cordón umbilical humano y promover la recuperación de la fertilidad mediante la angiogénesis y la regeneración endometrial a través de la inyección <i>in situ</i> .
<u>Biomaterial utilizado</u>	Gelatina de metacrilato (GelMA), hidrogel de metacrilato (SerMA) y células madre mesenquimales de cordón umbilical humano (HUMSC).
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción de experimento</u>	- <u>Creación de gelatina metacrílica (GelMA)</u>: Ésta será la base para la creación del hidrogel inyectable como portador de administración celular de células madre mesenquimales de cordón umbilical humano para promover la reparación del endometrio: Disolución de gelatina en agua a 50°C, agregando reactivo de metacrilato, agitación, centrifugación, dialización y liofilización. - <u>Creación de sericina metacrilada</u>: Extracción de sericina de capullos de gusano de seda mediante desgomado, disolución, adición de reactivo de metacrilato, ajuste de pH, agitación, dialización y liofilización. - <u>Preparación de hidrogel gelatina de metacrilato/hidrogel de metacrilato</u>: Mezcla de gelatina de metacrilato e hidrogel de metacrilato en diferentes concentraciones en agua, y exposición a luz UV para crear el hidrogel. Luego se caracterizaron los polímeros. - <u>Análisis de propiedades físicas de los hidrogeles</u>: A través de la evaluación de hinchazón, pruebas reológicas, pruebas de compresión y biodegradación <i>in vitro</i>. - <u>Evaluación de biocompatibilidad <i>in vitro</i></u>: Para evaluar biocompatibilidad de los materiales de hidrogel. - <u>Encapsulación de células madre mesenquimales de cordón umbilical humano</u>: Primero se generaron imágenes de células vivas, muertas y viabilidad, luego se analizaron manchas del citoesqueleto. - <u>Establecimiento de un modelo de daño endometrial de ratones <i>in vivo</i></u>: Se inyectó en el útero de los grupos experimentales; tampón de fosfato, hidrogel gelatina de metacrilato/hidrogel de metacrilato y células madre mesenquimales de cordón umbilical humano encapsuladas con hidrogel Gelatina de metacrilato/hidrogel de metacrilato, luego el útero se expuso a luz azul. El tejido uterino fue extirpado y seccionado o congelado. - <u>Observación de ciclos estradiales</u>: A través de monitoreos diarios, examen histológico, tinción por inmunofluorescencia y análisis de Western Blot. - <u>Evaluación de la fertilidad</u>: Se realizó luego de tres ciclos estrales.
<u>Resultado</u>	El hidrogel gelatina de metacrilato e hidrogel de metacrilato mostró buenas propiedades de hinchazón, resistencia y descomposición. En estudios celulares <i>in vitro</i> , los hidrogeles fueron altamente biocompatibles y eficientes para encapsular células madre mesenquimales del cordón umbilical humano. Experimentos <i>in vivo</i> revelaron que este hidrogel con células madre mesenquimales de cordón umbilical humano aumentó el grosor del endometrio, redujo la fibrosis y mejoró la receptividad del tejido endometrial a la transferencia de embriones.
<u>Conclusión</u>	Las propiedades del hidrogel se pueden ajustar variando la concentración de hidrogel de metacrilato. En pruebas de laboratorio, el hidrogel fomenta la proliferación y migración de células madre

	mesenquimales del cordón umbilical humano y mostró una buena capacidad de encapsulación celular. En un modelo de ratones con daño endometrial, el hidrogel con células madre mesenquimales de cordón umbilical humano aumentó el grosor del endometrio y mejoró la reparación del tejido dañado. Esto sugiere que el uso de este hidrogel con células madre puede ser una forma prometedora de mejorar la regeneración del endometrio y aumentar las posibilidades de embarazo.
Fuente bibliográfica	Chen, L., Li, L., Mo, Q., Zhang, X., Chen, C., Wu, Y., Zeng, X., Deng, K., Liu, N., Zhu, P., Liu, M., & Xiao, Y. (2022). An injectable gelatin/sericin hydrogel loaded with human umbilical cord mesenchymal stem cells for the treatment of uterine injury. Bioengineering & translational medicine, 8(1), e10328. https://doi.org/10.1002/btm2.10328

Tabla 15: Parches de microagujas compuestos de punta de flecha con adhesión a la superficie anisotrópica para prevenir las adherencias intrauterinas.

Título	Parches de microagujas compuestos de punta de flecha con adhesión a la superficie anisotrópica para prevenir las adherencias intrauterinas.
Órgano	Útero.
Objetivos	Crear parches biomédicos como estrategia para ayudar a la reparación y regeneración del tejido, prevenir la adhesión del tejido y reducir la fricción vecina.
Biomaterial utilizado	Hidrogeles de gelatina de metacrilato (gelMA), hidrogeles de <i>N</i> -acrilóil glicinamida (NAGA) e hidrogeles anti adhesivos de poli(etilenglicol) metacrilato (PEGMA).
Especie de experimento	Rata.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	- Proceso de fabricación y caracterización de las microagujas de punta de flecha: Se realizó mediante la preparación de soluciones de gelatina metacrílica y <i>N</i>-acrilóil glicinamida. Seguido de la exposición a luz UV para obtener las microagujas, estas se cargaron con factor de crecimiento de fibroblastos básico para promover la reparación del tejido. - Fabricación de microagujas: Se fabricaron microagujas de diferentes tamaños y formas utilizando foto máscaras. - Evaluación de profundidad de penetración y eficiencia: Se evaluaron en bloques de agarosa y tejidos de ratón. - Capacidad de superar las barreras: Se demostró la capacidad de superar las barreras de la epidermis (los tejidos fueron muestreados y examinados por microscopía). - Evaluación de adhesión a superficies anisotrópicas: Se evaluó con células humanas de adenocarcinoma endometrial (hE-ADV) sembradas en diferentes sustratos. - Evaluación del efecto del tratamiento: Se realizó un experimento en ratas Sprague-Dawley con modelos de adherencias intrauterinas para evaluar el efecto del tratamiento con las microagujas de punta de flecha, incluyendo la tinción de H&E, la tinción de Masson y la tinción de inmunofluorescencia de CD31 y α-SMA.
Resultado	Las microagujas de punta de flecha se lograron adherir a los tejidos y liberar medicamentos gracias a su estructura. Las puntas contienen factor de crecimiento de fibroblastos básico para reparar tejido dañado, mientras que la base inferior evita la adhesión no deseada. Su flexibilidad y patrones

	adaptables les permiten ajustarse a diferentes morfologías de tejidos. Se ha demostrado que son efectivas en el tratamiento de un modelo de ratas con prevención de adherencias intrauterinas, lo que sugiere su utilidad en la reparación del endometrio dañado y la prevención de adherencias intrauterinas.
<u>Conclusión</u>	Se ha demostrado que las micro agujas de punta de flecha con características únicas y encapsulado factor de crecimiento de fibroblastos en ellas para reparación y prevención de adherencias son efectivas en un modelo de rata de prevención de adherencias intrauterinas, mostrando su valor en la reparación del endometrio y la prevención de adherencias intrauterinas. Además de las prevención de adherencias intrauterinas, también tienen potencial para prevenir adherencias postoperatorias en cirugías abdominales y pélvicas. Aunque hay desafíos como la capacidad de liberación de medicamentos controlada, se espera que este enfoque multidisciplinario inspire avances en dispositivos biomédicos.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Zhang, X., Chen, G., Wang, Y., Fan, L., & Zhao, Y. (2022). Arrowhead Composite Microneedle Patches with Anisotropic Surface Adhesion for Preventing Intrauterine Adhesions. Advanced Science. https://doi.org/10.1002/advs.202104883

Tabla 16: Los patrones moleculares asociados al daño dependientes del protocolo de descelularización en estructuras de útero de rata afectan de manera diferencial la respuesta inmune después del trasplante.

<u>Título</u>	Los patrones moleculares asociados al daño dependientes del protocolo de descelularización en estructuras de útero de rata afectan de manera diferencial la respuesta inmune después del trasplante.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Investigar si los DAMP (daño aloténico independiente) inmunoestimulantes en los almacenes del útero son producidos por tres procesos de descelularización diferentes.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Andamios de útero descelularizado.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	Para el estudio se utilizó un total de 45 ratas hembra. Se utilizaron como donantes doce ratas de un tipo y tres ratas de otro tipo, mientras que las 30 ratas restantes se dividieron en cinco grupos. Uno de estos grupos estaba formado por seis ratas que recibieron tejido uterino y sirvió como grupo de control aloténico. Los animales restantes fueron singénicos (proveniente de un hermano gemelo idéntico) con respecto a los injertos de tejido de donantes descelularizados. Este entorno experimental nos permitió estudiar cualquier consecuencia inmunológica aloténica independiente potencialmente causada por el proceso de descelularización - Aislamiento y descelularización del útero: Cada uno de los 12 úteros que fueron descelularizados y utilizados como injertos para el estudio se aisló con una vasculatura intacta desde la aorta hasta la vena cava, lo que facilitó la descelularización mediante perfusión de todo el órgano. Cada útero se descelularizó según uno de los siguientes protocolos de descelularización; P1 y P2 se descelularizaron utilizando dimetilsulfóxido (4%) y triton-X100 (1%), respectivamente; P3 fue descelularizado con desoxicolato de sodio (SDC; 2%). Se llevó a cabo una etapa de esterilización.

	Luego, cada útero descelularizado se lavó con tampón de fosfato y se almacenó a -80 ° C hasta su uso posterior. <u>Preparación del material de injerto, procedimiento de trasplante y recuperación de biopsia:</u> Cada útero de rata descelularizado se descongeló del almacenamiento a largo plazo y se cortó en parches de tejido del útero y se esterilizaron. Bajo anestesia, se injertaron por vía subcutánea tres parches de los respectivos protocolos en la nuca de la rata según los grupos de animales enumerados. Se colocó una sutura en cada esquina de cada parche para asegurarlo al tejido. Luego se cerró la piel con tres puntos de sutura. Los días 5, 15 y 30 después del trasplante, se recuperó una de las piezas de tejido injertado reabriendo la incisión en la nuca bajo anestesia. Cada espécimen fue cuidadosamente aislado, luego cortado en dos pedazos: uno se colocó en formaldehído al 4% para el análisis histológico, y la otra pieza se recortó aún más, donde se eliminó la mayor cantidad posible de tejido huésped del injerto antes de colocarlo en RNALater para un análisis adicional de la expresión genética de los marcadores proinflamatorios. <u>Histología y análisis de imágenes:</u> Las biopsias se deshidrataron y se incluyeron en parafina y luego se cortaron en secciones de 5 µm. Análisis histológico con hematoxilina y eosina y 40,6-diamidino-2-fenilindol. El análisis de inmunohistoquímica se realizó utilizando un anticuerpo específico para células T, células T citotóxicas, células B, macrófagos, macrófagos M2 o células natural killer. <u>Análisis de expresión génica con PCR de gotitas digitales:</u> Las biopsias dejadas en RNALater se pesaron y se cortaron en trozos y luego se homogeneizaron. El ARN total se aisló utilizando el mini kit RNeasy y se midió en un NanoDrop One (Thermo Scientific). El gen de referencia utilizado fue la peptidil-prolil cis-trans-isomerasa H y los niveles de expresión se midieron utilizando una mezcla de sonda cebadora para los siguientes genes de citocinas proinflamatorias.
<u>Resultado</u>	Se logró reproducir estructuras de útero mediante descelularización. En las observaciones histológicas posteriores a la descelularización del útero, se detectó más restos nucleares en el frotis de hematoxilina en los armazones derivados de P1, mientras que los armazones producidos por P2 o P3 no mostraron ningún signo histológico de ADN restante. La estructura de la matriz extracelular fue generalmente bien preservada por cada protocolo. En el día 5, los injertos autólogos parecían bien integrados sin engrosamiento ni decoloración aparente. Los animales con aloinjertos presentaban engrosamiento en el lugar de la cirugía provocado por una acumulación subcutánea de sangre. Los injertos en los receptores de armazones P1, P2 o P3 estaban menos integrados en el tejido en comparación con los autoinjertos, pero cada implante parecía limpio sin ningún tejido fibroso particular que cubriera los implantes en esta etapa. El día 15, los aloinjertos estaban significativamente más encapsulados dentro del tejido fibroso, en comparación con los grupos singénicos, donde los injertos descelularizados parecían más integrados con signos de granulación. Los armazones P1-P3 eran más delgados y parecían haber reducido su volumen en comparación con su apariencia el día del injerto. El día 30 después del tratamiento, la degradación de esta estructura fue más evidente y las suturas marcadas nos ayudaron a identificar los sitios de injerto y a distinguir el tejido huésped del tejido de injerto en animales que recibieron injertos de tejido descelularizado (P1-P3). Sin embargo, los injertos se identificaron fácilmente en los dos grupos de control que recibieron injertos autólogos o alogénicos, particularmente en lo que respecta a los aloinjertos, que habían sido encapsulados y se desprendían fácilmente del tejido circundante.
<u>Conclusión</u>	El protocolo 2 generó los andamios menos inmunogénicos y, por lo tanto, debería ser el enfoque futuro para las aplicaciones de bioingeniería del útero <i>in vivo</i> .
<u>Fuente bibliográfica</u>	Padma, A. M., Alshaikh, A. B., Song, M. J., Akouri, R., Oltean, M., Brännström, M., & Hellström, M. (2021). Decellularization protocol-dependent damage-associated molecular patterns in rat uterus scaffolds differentially affect the immune response after transplantation. <i>Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine</i> , 15(7), 674–685.

Tabla 17: Regeneración de cuernos uterinos en ratas utilizando colágeno: Andamios cargados con tallo embrionario humano.

<u>Título</u>	Regeneración de cuernos uterinos en ratas utilizando colágeno: Andamios cargados con tallo embrionario humano.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Generar eficientemente células similares al endometrio a partir de hESC y utilizar estas células con una estructura de colágeno para reparar el daño uterino.
<u>Biomaterial utilizado</u>	hESC (células madre embrionarias humanas) /Colágeno.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Cultivo celular y diferenciación:</u> Cultivo de hESC, una línea celular derivada de blastocisto humano previo a la implantación se cultivó en una capa alimentadora de fibroblastos embrionarios de ratón (MEF) mitóticamente inactivados a 37 °C con un cambio de medio diario. Para mantener hESC indiferenciadas, los cultivos se pasaron una vez por semana diseccionando y transfiriendo mecánicamente las colonias de hESC a un alimentador MEF recién preparado. - <u>Aislamiento de células del estroma endometrial humano:</u> Se aislaron células del estroma del endometrio normal en la fase proliferativa temprana de mujeres con ciclos normales mediante biopsia endometrial en el momento del legrado diagnóstico antes de la fertilización <i>in vitro</i> y la transferencia de embriones. Los tejidos endometriales se trituraron y se digirieron enzimáticamente con colagenasa I al 0,1 %, a 37 °C durante 1 h. Las células estromales se separaron de las glándulas intactas mediante filtración del tejido. La pureza de las células estromales cultivadas fue superior al 95%, según lo determinado mediante tinción por inmunofluorescencia con anticuerpos policlonales contra vimentina. - <u>Diferenciación de células similares al endometrio:</u> La diferenciación de hESC se indujo mediante cocultivo independiente de contacto con células del estroma endometrial humano. Las colonias de hESC indiferenciadas se separaron de los alimentadores de MEF mediante disociación mecánica en pequeños grupos. Se cultivaron durante 4-5 semanas. - <u>Transcripción inversa y análisis cuantitativo de la reacción en cadena de la polimerasa:</u> El ARN total se extrajo de células cultivadas utilizando Trizol. Se puede detectar un aumento en la señal de fluorescencia por encima del fondo y el aumento es exponencial para el gen particular. - <u>Trasplante y estudios funcionales:</u> Las membranas de colágeno eran extractos de colágeno liofilizados de piel bovina que habían sido esterilizados. Se dejaron caer las suspensiones celulares sobre una membrana de colágeno. Un total de 132 cuernos uterinos de 66 ratas hembra adultas fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos de la siguiente manera: colágeno, células/colágeno, regeneración natural, y shamoperated. Después de anestesiarse a las ratas, se expusieron los cuernos uterinos mediante una incisión en la línea media abdominal. Se extirpó de un cuerno del útero un segmento de 1,5 cm de longitud y se conservó el mesometrio. Los armazones de colágeno (el grupo de colágeno) o los armazones con células (el grupo de células/colágeno) se suturaron en su lugar para reemplazar el segmento extirpado. En el grupo de regeneración natural, después de la escisión y la hemostasia completa, los defectos marcados se dejaron abiertos para la curación natural. En el grupo operado de forma simulada, después de la exposición mediante una incisión en la línea media abdominal, los cuernos uterinos se dejaron intactos en la cavidad abdominal sin escisión. Las ratas fueron anestesiadas a las 4 y 12 semanas después del trasplante. La permeabilidad de los cuernos uterinos se probó con perturbación con azul de metileno a través de la apertura de las

	fimbrias. Luego, se extirpó todo el útero y se sometió a hematoxilina-eosina (H&E) y a un ensayo de inmunotinción como se describe a continuación. La función uterina se evaluó determinando si un embrión fertilizado podía implantarse en el cuerno uterino regenerativo y si el embrión estaba soportado. Los animales se aparearon con ratas macho Sprague-Dawley 12 semanas después de la operación. La fertilización se confirmó por la presencia de un tapón vaginal. El período de gestación de las ratas es de 19 a 22 días. Los animales fueron sacrificados entre 15 y 19 días después de la presencia del tapón vaginal, y se examinaron los cuernos uterinos para determinar el número y la posición de los embriones. - Inmunotinción en células cultivadas y cortes de útero: Las células cultivadas se fijaron en placas con paraformaldehído al 4% en tampón de fosfato durante 30 minutos a temperatura ambiente, mientras que todo el útero se fijó durante la noche. Luego, los tejidos uterinos de rata se deshidrataron, se incluyeron en parafina y se seccionaron. Se aplicó tinción H&E para observar la estructura del tejido.
Resultado	Se descubrió que las células derivadas de hESC podían sobrevivir y recuperar la estructura y función de los cuernos uterinos en un modelo de rata con daño uterino severo. Se evaluó la recuperación de la función uterina de las células injertadas durante 12 semanas después del trasplante. El embarazo puede mantenerse hasta una etapa tardía (19 días después de la presencia del tapón vaginal) en todos los grupos. La mayoría de los embriones se implantaron en áreas normales y no en tejido injertado; sin embargo, en el grupo células/ colágeno los embriones se pudieron encontrar tanto en la zona normal como en la cicatrizada, con una proporción de 8/15 cuernos uterinos.
Conclusión	Se desarrolló un sistema de cocultivo para generar células similares al endometrio de manera eficiente a partir de la línea hESC, y se demostró que estas células, junto con los andamios de colágeno, podrían recuperar notablemente la estructura y función de los cuernos uterinos en un modelo de rata con enfermedad uterina grave. Por lo tanto, el protocolo de diferenciación presentado en el estudio será útil en futuros estudios sobre el desarrollo del endometrio humano, así como para una posible terapia de reemplazo celular de úteros lesionados en el futuro.
Fuente bibliográfica	Song, T., Zhao, X., Sun, H., Li, X., Lin, N., Ding, L., Dai, J., & Hu, Y. (2015). Regeneration of uterine horns in rats using collagen scaffolds loaded with human embryonic stem cell-derived endometrium-like cells. <i>Tissue Engineering. Part A</i>, 21(1–2), 353–361. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0052

Tabla 18: Desarrollo de un protocolo eficaz basado en perfusión para la descelularización de todo el órgano del útero ovino como modelo de tamaño humano y aplicación *in vivo* de los bioandamios.

Título	Desarrollo de un protocolo eficaz basado en perfusión para la descelularización de todo el órgano del útero ovino como modelo de tamaño humano y aplicación <i>in vivo</i> de los bioandamios.
Órgano	Útero.
Objetivos	Determinar un protocolo eficiente de descelularización de órganos completos de un útero de tamaño humano y evaluar las propiedades <i>in vivo</i> del bioandamio.
Biomaterial utilizado	Andamios de útero descelularizado.
Especie de experimento	Rata.

Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	- Descelularización del útero ovino: Se obtuvieron 24 úteros de ovejas adultas y fértiles. Los úteros fueron descelularizados mediante tres protocolos diferentes. Se perfundieron seis úteros con tampón de fosfato, seguido de perfusión de SDS al 1%, Triton X-100 al 1%, y tampón de fosfato para eliminar los detergentes restantes (protocolo I/P1). Se descelularizaron seis úteros mediante el segundo protocolo método de descelularización del útero de rata, perfusión con tampón de fosfato, DMSO al 4%, Triton X-100 al 1% y enjuague final con tampón de fosfato (protocolo II/P2). Además, se descelularizaron seis úteros perfundidos con agua destilada, SDS al 0,25%, conservación en solución de SDS al 0,25% a 4 °C en un agitador mecánico regulado a 60 RPM. Posteriormente, los órganos se perfundieron con SDS al 0,5%, seguido de una perfusión con agua destilada y conservación en formalina tamponada neutra al 10% a temperatura ambiente para la reticulación del colágeno. Finalmente, los órganos fueron lavados mediante perfusión de tampón de fosfato para eliminar los agentes químicos (protocolo III/P3). - Evaluaciones histológicas e inmunohistoquímicas de los andamios: Tras el proceso de descelularización se extrajeron segmentos de los tejidos nativos y acelulares del cuerno uterino para evaluaciones adicionales. Posteriormente, las muestras se deshidrataron, se incluyeron en parafina, se seccionaron en rodajas y se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E), tricrómico de Masson, rojo Picrosirius y azul Alcian para evaluar el contenido de matriz extracelular de los andamios. Finalmente, para obtener datos cuantitativos de muestras teñidas positivamente en todos los grupos y verificar la preservación de la integridad de la ECM, los portaobjetos de IHC se sometieron a análisis de imágenes. - Tinción DAPI y cuantificación de ADN: Se evaluó la eficacia del proceso de descelularización mediante tinción con 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) del ADN nuclear restante. Se obtuvieron secciones de muestras incluidas en parafina, se desparafinaron e incubaron en una solución DAPI, posteriormente se enjuagó con tampón de fosfato. Se empleó un microscopio de fluorescencia con un filtro UV. La ausencia de materiales nucleares se consideró una descelularización completa de las muestras. - Ensayo MTT: La citotoxicidad y biocompatibilidad de los andamios se evaluaron mediante el ensayo de bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT). - Microscopía electrónica de barrido: Se realizaron evaluaciones SEM para determinar la eficacia de los protocolos para la descelularización y preservación de la estructura de la ECM. - Caracterización biomecánica: Las propiedades biomecánicas del tejido nativo y de los andamios acelulares se evaluaron con una prueba de tracción. - Angiografía por tomografía computarizada: Se proporcionaron angiografías por tomografía computarizada (TC) para investigar el patrón vascular de los andamios y para comparar el impacto de los procesos de descelularización en la red vascular y la estructura microvascular. - Implantación de bioandamio y evaluación del proceso de recelularización: Después de la evaluación y caracterización de los tejidos acelulares, las muestras del protocolo III demostraron la mayor cantidad de preservación del contenido de ECM, el nivel más alto de biocompatibilidad y viabilidad celular, y la red vascular más próspera, además de la eliminación adecuada de los componentes nucleares. Por lo tanto, se determinó que el protocolo III era el método de descelularización óptimo y los bioandamios obtenidos se emplearon para investigaciones adicionales <i>in vivo</i>. Se obtuvieron ocho segmentos de andamios P3 y se implantaron en los cuernos uterinos derechos de ocho ratas para investigar el proceso de recelularización <i>in vivo</i>, además de la biocompatibilidad de estos andamios. Los animales fueron anestesiados. Posteriormente, se realizó una incisión abdominal en la línea media. Después de 10 días de seguimiento, los injertos fueron extraídos y fijados para evaluaciones histológicas e inmunohistoquímicas adicionales. Además, los cuernos uterinos opuestos de las ratas se extrajeron mediante electro cauterización y se fijaron para evaluaciones posteriores. Las muestras fueron estudiadas histológicamente mediante tinción con H&E, azul Alcian y tricrómico de Masson. Además, se realizaron evaluaciones inmunohistoquímicas utilizando anticuerpos para citoqueratina, actina alfa del músculo liso, CD31, Ki-67 y vimentina.
Resultado	El protocolo III (perfusión con solución de SDS al 0,25% y 0,5% y conservación en formalina al 10%) se determinó como el método optimizado con eliminación eficiente de los componentes celulares preservando la matriz extracelular. Además, los bioandamios de mostraron propiedades biomecánicas, estructurales y vasculares similares a las nativas. Las evaluaciones histológicas e

	inmunohistoquímicas de los injertos recolectados confirmaron la biocompatibilidad y el potencial de recelularización de los bioandamios. Los injertos demostraron una mayor reacción positiva para los marcadores CD31 y Ki67 en comparación con las muestras de control, lo que indicó propiedades de angiogénesis eminentes y capacidad proliferativa de los tejidos implantados.
<u>Conclusión</u>	Esta investigación presenta un protocolo optimizado para la descelularización de todo el órgano del útero de tamaño humano con características similares a las nativas y un destacado potencial de regeneración y angiogénesis que podría emplearse en estudios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . Este estudio es uno de los primeros que informa propiedades biomecánicas y evaluaciones angiográficas de un armazón uterino de animales grandes.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Daryabari, S. S., Kajbafzadeh, A.-M., Fendereski, K., Ghorbani, F., Dehnavi, M., Rostami, M., Garajegayeh, B. A., & Tavangar, S. M. (2019). Development of an efficient perfusion-based protocol for whole-organ decellularization of the ovine uterus as a human-sized model and in vivo application of the bioscaffolds. <i>Journal of Assisted Reproduction and Genetics</i> , 36(6), 1211–1223. https://doi.org/10.1007/s10815-019-01463-4

Tabla 19: Los andamios de matriz de vejiga urinaria mejoran la regeneración endometrial en un modelo de adherencias intrauterinas en ratas.

<u>Título</u>	Los andamios de matriz de vejiga urinaria mejoran la regeneración endometrial en un modelo de adherencias intrauterinas en ratas.
<u>Órgano</u>	Útero.
<u>Objetivos</u>	Investigar si el trasplante de matriz de vejiga urinaria mejora la regeneración endometrial en ratas con adherencias intrauterinas.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Matriz de vejiga urinaria derivada de vejiga porcina.
<u>Especie de experimento</u>	Ratas.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental controlado.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Preparación de la matriz:</u> Se usó microscopía de barrido para visualizar las características de la superficie de la matriz de vejiga urinaria porcina. - <u>Modelo de adherencia y trasplante de matriz:</u> El modelo fue hecho en ratas y se usó un legrado endometrial con hoja de bisturí para formar las adherencias. El cuerno uterino derecho se utilizó como lado experimental, mientras que el izquierdo fue el control. Los útero fueron extirpados a las 2 semanas después de la operación. Para la evaluación de la función del modelo se realizaron 4 grupos: grupo A con úteros que no recibieron tratamiento; el grupo B recibió incisiones y suturas en los cuernos uterinos sin raspar el endometrio; al grupo C se le realizaron incisiones, suturas y legrado; finalmente el grupo D fue el que recibió el tratamiento con la matriz de vejiga urinaria posterior a un legrado de endometrio. - <u>Examen histológico:</u> Las ratas fueron eutanasiadas a las 2, 4 y 8 semanas postoperatorias, se tomaron muestras de los cuellos uterinos y se fijaron para luego ser teñidas con tinción hematoxilina/eosina y tinción de Masson. Se evaluó grosor del endometrio y fibrosis endometrial. - <u>Ensayo inmunohistoquímica e inmunofluorescencia:</u> Las muestras se inmunomarcaron con anticuerpos contra el factor Von Willebrand y Ki67. - <u>Aislamiento de ARN y RT-qPCR:</u> Se extrajo el ARNm de los tejidos uterinos con el método trizol. La concentración y pureza se midieron con un espectrofotómetro y se aisló el ADNc con kit de

	reactivos. Posteriormente se realizaron reacciones cuantitativas en cadena de polimerasa en tiempo real y se analizaron en un sistema de PCR en tiempo real rápido. - Prueba de funcionamiento: Se evaluó probando si era receptivo a un óvulo fertilizado y podía soportar un embrión hasta la última etapa del embarazo.
Resultado	Al análisis morfológico todos los grupos experimentales generaron adherencias en la zona perioperatoria y en algunos cuernos se desarrolló hidrometría distal por obstrucción intratubárica, incluyendo los úteros con matriz de vejiga. A las 4 semanas postoperatorias el biomaterial de matriz de vejiga estaba casi completamente degradado, presentaba mayor celularización y grosor de endometrio, además de menor área fibrótica, que el grupo de lesiones (B). Inmunohistoquímicamente, la matriz de vejiga mejoró la expresión de la citoquina antiinflamatoria y redujo la expresión de las citoquinas proinflamatoria y las relacionadas con la fibrosis. En cuanto a la receptividad endometrial se vieron más fetos implantados en el grupo con matriz que en el de lesión, pero la cantidad fue mucho menor que en los grupos normal y el operado.
Conclusión	La matriz de vejiga urinaria promueve la reparación funcional del endometrio al promover migración y proliferación de células endometriales y la formación de vasos sanguíneos, mejorando receptividad y aumentando fertilidad.
Fuente bibliográfica	Zhang, H., Zhang, Q., Zhang, J., Sheng, F., Wu, S., Yang, F., & Li, W. (2020). Urinary bladder matrix scaffolds improve endometrial regeneration in a rat model of intrauterine adhesions. <i>Biomaterials Science</i>, 8(3), 988-996. https://doi.org/10.1039/c9bm00651f

Tabla 20: Reconstrucción parcial del cuello uterino en rata mediante un armazón cervical uterino humano descelularizado combinado con células madre derivadas del tejido adiposo.

Título	Reconstrucción parcial del cuello uterino en rata mediante un armazón cervical uterino humano descelularizado combinado con células madre derivadas del tejido adiposo.
Órgano	Útero.
Objetivos	Desarrollar un andamio cervical recelularizado derivado del andamio cervical descelularizado humano para la regeneración del cuello uterino.
Biomaterial utilizado	Armazón cervical uterino humano descelularizado combinado con células madre derivadas del tejido adiposo.
Especie de experimento	Rata.
Tipo de estudio	Estudio experimental.
Descripción del experimento	- Descelularización del tejido cervical humano: Se recolectaron muestras de tejido cervical de mujeres sometidas a histerectomía. La descelularización con dodecilsulfato de sodio es un reactivo eficaz ampliamente utilizado para órganos más gruesos. - Método dodecilsulfato de sodio: Las muestras se lavaron en tampón fosfato salino tampón de fosfato a 37°C durante 1 h, y luego se sometió a dos ciclos. Cada ciclo constaba de 4 pasos de inmersión a 37°C en agitador 24 h de dodecilsulfato de sodio al 0,1%, 30 min de ddH₂O, 30min de Triton X-100 al 1%, y finalmente 5h de tampón de fosfato.

	- Método desoxicolato de sodio: Las muestras se sumergieron en una solución de DOC al 0,25 % y Triton X-100 al 0,25 % a 37°C en un agitador durante 48 h y luego se lavó en tampón de fosfato durante 72. Los andamios descelularizados se almacenaron en tampón de fosfato que contenía penicilina/estreptomicina al 1% a 4°C. - Estudios Histoquímicos y Evaluaciones de ADN: Para evaluar la eficacia de la descelularización y la integridad de la ECM, se procesaron secciones para elastina, colágeno IV y fibronectina; se tiñeron y fueron vistas con un microscopio de fluorescencia. Para la cuantificación del ADN, los segmentos se pesaron y homogeneizaron, se realizó la extracción del ADN y mediciones de la concentración. - Aislamiento, cultivo e identificación de células madre derivadas del tejido adiposo: Se recogió tejido adiposo subcutáneo en el área de la ingle de una rata y se lavó con tampón de fosfato. El tejido se picó y se digirió con collagenasa tipo I. Después de la neutralización, la mezcla digerida se centrifugó y el sedimento se resuspendió en medio, se cultivó. Se utilizaron anticuerpos anti-CD29, anti-CD90, anti-CD34 y anti-CD45 para la citometría de flujo de células madre derivadas del tejido adiposo. Para evaluar el potencial de diferenciarse, se utilizaron tres células para la diferenciación inducida por osteogénica, adipogénica y condrogénica. - Andamios recelularizados y microscopía electrónica de barrido (SEM): Después de lavarlos con tampón de fosfato, los armazones descelularizados se secaron y se cortaron en rodajas. Las muestras se expusieron a radiación. Se agregaron células madre derivadas del tejido adiposo a cada andamio y se incubaron en una placa de cultivo. Las muestras fueron pulverizadas con oro y visualizadas mediante microscopía electrónica de barrido. - Implantación de Muestras: Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a cuatro grupos. Después de la anestesia, se extirpó del cuello uterino un segmento (se estableció un modelo de rata de defecto cervical parcial). Para dos grupos de andamios, implantamos un andamio recelularizado o un andamio descelularizado. Para el grupo de escisión subtotal únicamente, el cuello uterino con defectos se dejó para que sanara espontáneamente sin ningún soporte. Y el grupo de control normal se sometió a una laparotomía simulada sin escisión del cuello uterino. - Examen macroscópico y estudios histoquímicos: Las ratas de cada grupo se sacrificaron después de las cirugías. Se realizó un examen macroscópico y se comprobó la permeabilidad del útero con una inyección de tinción. El cuello uterino que contenía el área injertada se extrajo y se fabricó en secciones incluidas en parafina. Las secciones se tiñeron. La distancia desde el sitio quirúrgico hasta la luz del canal cervical se midió como espesor del sitio quirúrgico cervical, se analizó para evaluar el grado de reparación cervical. Se utilizó tinción para detectar fibrosis cervical. - Evaluación de la fertilidad: Las ratas con armazón recelularizado y descelularizado se aparearon con machos fértiles 30 días después de la cirugía, y se evaluó la condición del injerto y el número y posición de los embriones. - Rastreo celular: Para rastrear el andamio recelularizado implantado, se utilizaron células madre derivadas del tejido adiposo con una tinción específica para rastreo celular. Las ratas se sacrificaron 3 días después de la implantación y las muestras se incluyeron en el compuesto y se congelaron para criosección. Los núcleos celulares se tiñeron con 4',6-diamidino-2-fenilindol.
Resultado	Evaluación del cuello uterino humano descelularizado: Se demostró la ausencia de componentes nucleares después del método dodecilsulfato de sodio y reveló fibras de colágeno abundantes similares con una disposición mantenida después y antes de la descelularización. La tinción roja del citoplasma se eliminó por completo, mientras que las fibras de colágeno azules permanecieron. Se observa preservación notable de las proteínas de glicosaminoglicanos sulfatados. En comparación con los tejidos nativos, el ADN restante del andamio descelularizado de ambos métodos disminuyó. Sin embargo, el contenido de ADN del método SDS fue significativamente menor que el del método DOC. La elastina permaneció abundante, dando elasticidad al tejido y resistencia a la tensión. El colágeno IV, el componente principal de la membrana basal vascular se distribuyó uniformemente en la estructura descelularizada. No se mostró ningún cambio significativo en la fibronectina, que desempeña un papel central en la adhesión celular y regula la polaridad, la diferenciación y el crecimiento celular. En el proceso de recelularización del cuello uterino humano descelularizado las células exhibieron una morfología en forma de huso y se adhieren bien a la placa de cultivo. Y se diferenciaron con éxito en linajes osteogénicos, adipogénesis y condrogénicos. Estos resultados indicaron que las células que cultivamos eran células madre derivadas del tejido adiposo con potencial de diferenciación multilingüe.

	En base a la recelularización y por microscopía electrónica de barrido se obtuvo gran cantidad de fibras de colágeno distribuidas ordenadamente en el andamio descelularizado con algunos poros vacíos que se consideran vacantes derivadas de la eliminación de células. El andamio proporcionó un entorno favorable para las células sembradas. Al realizar la reconstrucción de defecto cervical uterino parcial en ratas el andamio recelularizado como el andamio descelularizado mostraron integración en el tejido adyacente. El grupo de escisión subtotal únicamente mostró cicatrices fibróticas y atrofia leve en el sitio quirúrgico. La prueba de permeabilidad uterina mostró que la solución fluyó en todos los grupos. La evaluación Histológica mostró una alta densidad celular entre las fibras y disposición ligeramente desordenada. En comparación con el grupo de armazón descelularizado, el grupo de armazón recelularizado tuvo una neovascularización y celularización más obvias. Sin embargo, el grupo de escisión subtotal mostró formación de cicatrices y deficiencia de células nativas. El área fibrótica del grupo de armazón recelularizado era menor que la del grupo de escisión subtotal únicamente. En relación con la inmunohistoquímica en CD31 positiva difusa en ambos grupos de armazón, lo que sugirió una angiogénesis ideal de los implantes. El grupo de control normal mostró Ki67(proliferación celular) positivo débil, mientras que ambos grupos de armazón revelaron una reacción positiva significativamente más fuerte para la tinción de Ki67 en todas las partes del sitio quirúrgico que otros grupos, lo que confirmó la capacidad regenerativa de los implantes. La evaluación de la fertilidad en armazón recelularizado, todas las ratas estaban preñadas con un número similar de embriones al normal. Una rata dio a luz crías sanas, lo que demostró que el cuello uterino reparado puede soportar la expansión durante el embarazo. Todas menos una rata estaba preñadas en el grupo de armazón descelularizado y se observó hiperemia en la rata no preñada. Existían embriones en ambos lados del útero de ratas preñadas. Estos resultados implican que el armazón recelularizado podría reparar el cuello uterino y promover la recuperación de la fertilidad. Rastreo celular <i>in vivo</i> se obtuvo que las células madre derivadas del tejido adiposo marcadas mostraron una morfología típicamente en forma de huso y tenían expresión estable de fluorescencia verde. Después del rastreo celular, las imágenes mostraron una fluorescencia verde difusa en todo el andamio (células migraron al andamio y proliferaron). Después de la implantación, se encontró mucha fluorescencia verde, especialmente en el sitio del implante (células del donante sobrevivieron y ejercieron efectos funcionales <i>in vivo</i>).
<u>Conclusión</u>	En conclusión, el tejido cervical de ingeniería tisular se ha construido con éxito mediante un andamio descelularizado combinado con células madre derivadas del tejido adiposo, que se asemeja mucho al tejido cervical nativo en morfología y función en el modelo de rata. Este estudio proporciona una base experimental para la aplicación exitosa de la ingeniería de tejidos cervicales en la práctica clínica en el futuro.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Li, Y., Li, C., Guo, L., Liu, X., Hua, K., & Zhang, X. (2022). Partial reconstruction of uterus cervix in rat by decellularized human uterine cervical scaffold combined with Adipose-Derived stem cells (ADSCs). Journal of immunology research, 2022, 1-12. https://doi.org/10.1155/2022/6287435

Tabla 21: Estructura ovárica humana descelularizada basada en un protocolo tratado con lauril éster sulfato de sodio (SLES), como estructura tridimensional natural para la construcción de ovarios modificados mediante bioingeniería.

<u>Título</u>	Estructura ovárica humana descelularizada basada en un protocolo tratado con lauril éster sulfato de sodio (SLES), como estructura tridimensional natural para la construcción de ovarios modificados mediante bioingeniería.
<u>Órgano</u>	Ovario.

Objetivos	Creación de ovarios mediante bioingeniería para pacientes que sufren insuficiencia ovárica debido a trastornos autoinmunes, predisposición genética o tratamientos para algunas enfermedades como las reumatológicas y las renales crónicas.
Biomaterial utilizado	Andamio de ovario descelularizado humano.
Especie de experimento	Ratas.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	: Evaluaciones <i>in vitro</i>: Se obtuvieron ovarios humanos de cinco pacientes sometidas a cirugía de reasignación sexual y se llevaron al laboratorio en hielo seco. Tras el procesamiento, se eliminaron áreas dañadas por calor y se congelaron las muestras a -80°C. : Proceso de descelularización: Los ovarios se dividieron y se tomaron tiras de la corteza. Algunas se mantuvieron intactas, y otras se descelularizaron con SLES y DNasa I. Además, dos ovarios completos se descelularizaron. Todos los tejidos se enjuagaron en tampón de fosfato tras cada paso y se fijaron o almacenaron para su análisis posterior. : Evaluaciones histológicas: Se tomaron secciones de andamios ováricos descelularizados y tejidos intactos, se tiñeron con H&E y Hoechst. Se confirmó la eliminación celular eficaz mediante microscopios ópticos y fluorescentes con cámaras digitales. : Análisis de contenido de ADN: Se utilizó un kit de cuantificación de ADN de Qiagen para medir el rendimiento de ADN en muestras. Esto se hizo espectrofotométricamente midiendo la densidad óptica a 260 nm con un NanoDrop ND-1000. : Inmunohistoquímica: Se aplicaron pruebas de inmunohistoquímica en tejido congelado usando anticuerpos específicos para colágeno tipo I, colágeno tipo IV, fibronectina y laminina, detectando con DAB+. Se incluyó un control técnico negativo para comparar. : Microscopía electrónica de barrido (SEM): Las muestras descelularizadas se sometieron a evaluación ultraestructural. Fueron fijadas, deshidratadas, secadas con hexametildisilazano y recubiertas con oro antes de la captura de imágenes mediante un microscopio VEGA3 a 10 kV. : Evaluación de citotoxicidad: La compatibilidad del andamio ovárico descelularizado se evaluó <i>in vitro</i> con células madre mesenquimales humanas. Se liofilizaron y esterilizaron con luz UV antes de sembrar células y evaluar la viabilidad y proliferación utilizando el ensayo MTT en comparación con placas convencionales. : Extracción de las células ováricas primarias y siembra en el andamio: Se aislaron células ováricas primarias de ratas y se cultivaron en los andamios después de su liberación en el medio de cultivo. Tras la siembra en los armazones, se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo MTT en algunos armazones antes del injerto. : Modelo animal: Se utilizaron ratas, divididas en grupos de ovariectomía o simulación. Después de la ovariectomía, las ratas ovariectomizadas se subdividieron en grupo. Tras cuatro semanas, se evaluó la permeabilidad vaginal, se tomaron muestras de sangre y se retiraron los injertos para análisis. : Ensayo de hormonas séricas: Se midieron niveles de hormonas (E2 y P4) en suero con kits de ELISA con sensibilidades analíticas específicas. Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo para E2 fueron 6,9% y 9,2%, y para P4 fueron 5,8% y 4,7%. Las muestras se analizaron en pocillos recubiertos con anticuerpos y se leyeron a 450 nm. : Evaluaciones histológicas e inmunohistoquímicas de injertos trasplantados: Se realizaron tinciones H&E para evaluar la morfología y tinciones de inmunohistoquímica para detectar marcadores ováricos en los injertos trasplantados. Se usó H2O2 al 3% y tampón citrato para inactivar la peroxidasa endógena y recuperar antígenos. Se incubaron con anticuerpos monoclonales como ER, PR e inhibina-α, seguido de la visualización con DAB y contraste con hematoxilina. : Análisis estadístico: Se utilizaron análisis estadísticos para evaluar datos de ADN, hormonas y ensayos MTT. Se realizaron procedimientos con tejidos ováricos de pacientes transgénero, incluyendo descelularización y análisis de la matriz extracelular. Se estudió la ultraestructura

	mediante microscopía electrónica y se evaluó la citotoxicidad en células madre mesenquimales humanas.
Resultado	Se realizaron estudios <i>in vivo</i> para evaluar la biocompatibilidad, la bioactividad y las funciones de secreción del andamio sembrado con células de ovario después del trasplante. Nuestros hallazgos mostraron una adaptación bastante buena de los injertos en los receptores. Ninguna de las ratas murió y no se observaron complicaciones importantes como resultado del procedimiento durante las 4 semanas de seguimiento posteriores a la cirugía.
Conclusión	Se demostró que un andamio de matriz extracelular específico de ovario humano basado en un protocolo descelularizado tratado con lauril éster sulfato de sodio debido a sus propiedades específicas, es un candidato prometedor para la reconstrucción del ovario modificado mediante bioingeniería como biomimetismo del nicho ovárico natural para sustentar las células del estroma ovárico y los ovocitos.
Fuente bibliográfica	Hassanpour, A., Talaei-Khozani, T., Kargar-Abarghouei, E., Razban, V., & Vojdani, Z. (2018). Decellularized human ovarian scaffold based on a sodium lauryl ester sulfate (SLES)-treated protocol, as a natural three-dimensional scaffold for construction of bioengineered ovaries. Stem Cell Research & Therapy, 9(1). https://doi.org/10.1186/s13287-018-0971-5

Tabla 22: Optimización del protocolo de siembra de células en el andamio ovárico descelularizado humano: aplicación de un sistema dinámico para bioingeniería.

Título	Optimización del protocolo de siembra de células en el andamio ovárico descelularizado humano: aplicación de un sistema dinámico para bioingeniería.
Órgano	Ovario.
Objetivos	Desarrollar un sistema de cultivo optimizado para la siembra eficiente de células madre mesenquimales del peritoneo (PMSC) en un andamio de ovario descelularizado humano.
Biomaterial utilizado	Andamio de ovario descelularizado humano.
Especie de experimento	No aplica.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	- Descelularización del tejido ovárico humano: Se obtuvo tejido ovárico humano y se descelularizó mediante almacenamiento a baja temperatura, tratamiento con NaOH y enjuague en solución salina durante 48 horas. - Estudio de microscopía electrónica de barrido: Las muestras se fijaron con glutaraldehído al 2,5%, se trataron con tetróxido de osmio al 1%, se deshidrataron con etanol y se recubrieron con oro. Luego se examinaron utilizando un microscopio electrónico de barrido (SEM) para investigar sus estructuras. - Siembra de células madre mesenquimales del peritoneo en un andamio de ovario descelularizado humano: Los armazones ováricos descelularizados se dividieron en tres grupos. Se evaluó la viabilidad celular de cada grupo y se encontró un protocolo óptimo para la siembra de células madre mesenquimales en el andamio de ovario.

	- Viabilidad celular: Se evaluó la viabilidad de las células ováricas mediante un ensayo de coloración metabólica MTS. Para ello, las células ováricas se transfirieron a un pocillo nuevo después de lavarlas en tampón de fosfato durante 3-4 horas, las cuales se incubaron con 100 µl de medio libre DMEM/F12 suplementado con 20 µl de MTS/PMS. Se obtuvo como respuesta color en presencia de células viables. - Evaluaciones histológicas: Se evaluaron las células ováricas de tres protocolos de siembra mediante análisis histológico. Las células se fijaron y se incluyeron en parafina, luego se cortaron en secciones de 6 µm y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Se utilizó un microscopio para capturar imágenes y se evaluó la distribución y migración de las células madre mesenquimales en las construcciones de ingeniería ovárica. - Inmunohistoquímica para Stella, Prdm14, Blimp1, CD90 y Ki67: Se aplicó inmunohistoquímica para evaluar la diferenciación de células madre mesenquimales en células similares a células germinales primordiales en células ováricas cultivadas en matraces giratorios. Se revelaron proteínas de desarrollo utilizando anticuerpos específicos. Las secciones se tiñeron con hematoxilina y se observaron bajo microscopía para calcular el porcentaje de células positivas en relación con el total. Esto permitió evaluar la diferenciación de células madre mesenquimales en células similares a células germinales primordiales en las OVEC. - Estimación del número de células y migración por estereología: Se usaron métodos estereológicos para obtener resultados 3D a partir de imágenes 2D de células ováricas. Se contaron las células madre mesenquimales del peritoneo en construcciones de ingeniería ovárica mediante un disector óptico. Esto implicó cortar secciones uniformes aleatorias, observar los núcleos bajo un microscopio y usar una fórmula que consideraba varios parámetros para calcular el número total de células a partir del volumen del andamio.
Resultado	La siembra rotacional mejora la permeabilidad y la supervivencia de las células madre mesenquimales del peritoneo en el andamio. Estas células tienen una mayor proliferación, expresan marcadores específicos del ovario y se distribuyen de manera más efectiva en el andamio. Además, se observa diferenciación a células de ovario sin producción de marcadores de células madre mesenquimales.
Conclusión	El uso de un matraz giratorio provoca el movimiento de las células madre mesenquimales del peritoneo alrededor de los armazones ováricos y mejora el contacto entre las células y el armazón. Esto la convierte en una técnica más favorable para la siembra de células en tejido ovárico desceldularizado que los métodos convencionales y de inyección.
Fuente bibliográfica	Mirzaeian, L., Eivazkhani, F., Hezavehei, M., Moini, A., Esfandiari, F., Valojerdi, M. R., & Fathi, R. (2020). Optimizing the cell seeding protocol to human decellularized ovarian scaffold: Application of Dynamic System for Bio-Engineering. PubMed, 22(2), 227-235. https://doi.org/10.22074/cellj.2020.6604

Tabla 23: Autocrinación hormonal mediante administración de hidrogel vascularizado de esferoides ováricos para rescatar disfunciones ováricas.

Título	Autocrinación hormonal mediante administración de hidrogel vascularizado de esferoides ováricos para rescatar disfunciones ováricas.
Órgano	Ovario.
Objetivos	Establecer mediante varios factores innovadores la aplicación de un hidrogel de microcanales con cultivo de esferoides ováricos autólogos [hidrogel vascularizado con esferoides ováricos (VHOS)] su traducción clínica.

<u>Biomaterial utilizado</u>	Hidrogel vascularizado con esferoides ováricos (VHOS).
<u>Especie de experimento</u>	Ratas.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Reactivos y anticuerpos:</u> Se utilizaron diversos reactivos y anticuerpos en el estudio, los cuales se emplearon en diferentes procesos del estudio para poder llevar a cabo el análisis y la medición específica. - <u>Cosecha de células de ovarios de rata:</u> Se obtuvieron células endocrinas de ovarios de ratas mediante un proceso que implicó la extracción de ovarios, eliminación de tejido no deseado, lavado, extracción de células granulosas y de teca, y confirmación de su pureza mediante citometría de flujo con marcadores específicos como CYP19 y CYP17A1. - <u>Hidrogel de red de microcanales con esferoides ováricos (VHOS):</u> Se formaron esferoides de células G y T y células G, recubrimiento M y células T combinando células granulosas y de teca. Luego, se emplearon microcanales con hidrogel para imitar un ciclo menstrual de 30 días, observando la perfusión mediante microperlas fluorescentes y análisis de seguimiento. - <u>Ovariectomía en rata e isquemia de las patas traseras:</u> Se indujo isquemia en las patas traseras y se implantó un VHOS en un grupo de ratas. Otro grupo se sometió a una ovariectomía bilateral y se trató con hormonas para simular el ciclo menstrual. Se observaron cambios en el peso corporal y las hormonas durante 42 días. - <u>Expresión y producción de proteínas:</u> Las células se fijaron y tiñeron para inmunofluorescencia, luego se analizaron con microscopía confocal. También se utilizó citometría de flujo con marcadores celulares. Para el análisis de transferencia Western, las proteínas se separaron y se usaron anticuerpos para la detección de proteínas. - <u>Viabilidad celular, circularidad de esferoides y tinción de perfusión de canales en VH:</u> Se evaluó la supervivencia de esferoides en un hidrogel vascular después de 30 días de cultivo <i>in vitro</i> y 28 días de implantación en una extremidad isquémica de ratón. Se utilizó un ensayo de vivo/muerto y se analizó la forma de los esferoides. También se investigó la conexión del flujo sanguíneo en los hidrogeles implantados con microperlas fluorescentes rojas y microscopía confocal. - <u>Recuperación funcional e histológica tras ovariectomía:</u> Se analizaron los niveles hormonales en muestras de cultivo y sangre a lo largo del tiempo para evaluar la función endocrina de los esferoides celulares. Se midieron hormonas sexuales, FSH y LH mediante kits ELISA y un lector de microplacas. Además, se examinaron tejidos uterinos de ratas para evaluar la recuperación histológica mediante microscopía y mediciones de espesor del miometrio y el endometrio. - <u>Efectos secundarios de la terapia hormonal sintética:</u> Se evaluó la trombosis venosa y se trataron la expresión de marcadores de cáncer en tejido uterino utilizando TEM e IHC, respectivamente. - <u>Riesgos para la salud relacionados con la menopausia:</u> Se aplicó DEXA para evaluar la grasa corporal total en las ratas y se analizaron los huesos del fémur mediante micro-CT de rayos X en haz cónico, realizando un análisis cuantitativo de varios parámetros con software 3D.
<u>Resultado</u>	La implantación de Hidrogel vascularizado con esferoides ováricos suprime eficazmente los efectos secundarios observados con el tratamiento con hormonas sintéticas y previene las secuelas de la menopausia. Estos resultados sugieren que puede usarse como un enfoque alternativo a la terapia hormonal estándar.
<u>Conclusión</u>	Los resultados se deben al soporte proporcionado por el hidrogel vascular, permitiendo la función de los ovarios artificiales <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> al mantener la viabilidad y función de células G, recubrimiento M y células T. La implantación del Hidrogel vascularizado con esferoides ováricos en una extremidad isquémica resultó en la producción continua de hormonas gracias al suministro sostenido de oxígeno y nutrientes a través del crecimiento de vasos sanguíneos en la red de canales.

Fuente bibliográfica	Yoon, H. J., Lee, Y. J., Baek, S. W., Chung, Y. E., Kim, D. H., Lee, J. H., Shin, Y. C., Shin, Y. M., Ryu, C., Kim, H. S., Ahn, S. H., Kim, H., Won, Y. B., Lee, I., Jeon, M., Cho, S., Lee, B. S., Sung, H. J., & Choi, Y. S. (2021). Hormone autocrination by vascularized hydrogel delivery of ovary spheroids to rescue ovarian dysfunctions. Science Advances, 7(18). https://doi.org/10.1126/sciadv.abe8873
-----------------------------	--

Tabla 24: Un modelo de la topología y la mecánica del ovario humano para la bioingeniería y el diagnóstico de próxima generación.

Título	Un modelo de la topología y la mecánica del ovario humano para la bioingeniería y el diagnóstico de próxima generación.
Órgano	Ovario.
Objetivos	Describir los aspectos específicos que se investigaron en relación con el tejido ovárico humano, como el grosor y la orientación de las fibras de la matriz extracelular alrededor de los folículos, el número y tamaño de los poros, la topografía y las propiedades mecánicas (elásticas y viscoelásticas) del tejido ovárico.
Biomaterial utilizado	Tejido ovárico humano.
Especie de experimento	No aplica.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	Biopsias de ovario incluidas en el estudio: Tejido ovárico se obtuvo de diferentes grupos de edad y se analizó con microscopía electrónica de barrido y microscopio de fuerza atómica, con selección cuidadosa de pacientes para evitar sesgos de ciclo menstrual y terapia hormonal. Caracterización de fibras y poros: Se usaron imágenes microscopía electrónica de barrido para medir el espesor de las fibras y características de los poros, convirtiéndolas en imágenes binarias y segmentándolas para análisis de espesor de fibra y tamaño promedio de poros. Microscopía electrónica de barrido: Las muestras de ovario se fijaron en solución de Karnovsky, se criofracturaron y se sometieron a un proceso de fijación y preparación para su observación mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) en varios aumentos. Tinción de inmunofluorescencia: Las secciones de parafina se desparafinaron y se eliminó la autofluorescencia. Luego, se sometieron a recuperación de antígeno y bloqueo de sitios de unión no específicos. Se incubaron con un anticuerpo antielastina, se detectó con peroxidasa de rábano picante y se visualizó mediante tiramida conjugada. Finalmente, se contra tiñeron los núcleos y se montaron los portaobjetos. Tinción con rojo sirio: Las secciones de parafina se desparafinaron, rehidrataron y tiñeron con Sirius Red al 1,3% para visualizar el colágeno. Luego, se digitalizaron con un escáner de diapositivas. Las imágenes se capturaron con configuraciones específicas. Análisis de orientación: Se analizaron imágenes coloreadas con Sirius Red para medir la orientación de las fibras y se examinó cómo se organizan alrededor de los folículos. Los resultados se presentaron en gráficos semipolares relacionando la orientación con los bordes de los folículos. Análisis de rectitud de fibra: La rectitud de la fibra mide la línea recta versus la longitud real de una fibra y varía de 0 a 1, donde 1 indica una fibra completamente recta y valores más bajos indican complejidad. Se calculó utilizando el software CT-FIRE en muestras teñidas con Sirius Red. Preparación de muestras para AFM: Se tomaron biopsias de ovario criopreservadas y se prepararon para el análisis de AFM. Las secciones de tejido se montaron en un dispositivo Microscopio de fuerza atómica para su posterior caracterización biomecánica.

	:- Mediciones de AFM: Se evaluaron propiedades reológicas de secciones de tejido ovárico de 50 μm de espesor con microscopio de fuerza atómica. Se registraron curvas de fuerza-indentación en condiciones ambientales, y se analizaron datos de rigidez y viscoelasticidad con un modelo modificado, representando los resultados en mapas topográficos. :- Medición topográfica: Se tomaron imágenes microscopía electrónica de barrido de una región de tejido y se giraron 5° a lo largo del eje X para reconstrucción 3D estereoscópica. Se utilizó un software electrónico de barrido 8 para calcular la rugosidad superficial (S_a) y se aplicaron filtros para normalizar los datos en superficies irregulares. :- Análisis estadístico: Se utilizó un tipo de para análisis estadístico, incluyendo pruebas de normalidad, análisis de varianza y pruebas circulares.
Resultado	Los hallazgos indican una organización distintiva de la matriz extracelular (MEC) ovárica. En la prepubertad, se observaron fibras delgadas dispuestas en haces delgados, que se volvieron más gruesos con la edad. Durante la pubertad, la disposición de estas fibras cambió. Las fibras de colágeno mostraron una orientación general en torno a los 90 grados en todos los grupos de edad. Las diferencias en la orientación fueron significativas entre los grupos reproductivos y prepuberales, así como entre los menopáusicos. La orientación de las fibras no varió notablemente entre los grupos prepuberales y menopáusicos, aunque hubo diferencias en la dispersión angular. El análisis de la orientación de las fibras de colágeno alrededor de los bordes de los folículos ováricos preantrales tanto en la prepubertad como en la edad reproductiva mostró una reorganización dramática de su microambiente fibroso con la etapa del folículo. Al combinar los resultados elásticos y viscoelásticos, notamos que, a pesar de cambios significativos en la elasticidad entre la edad reproductiva y el tejido menopáusico, ambos ovarios muestran comportamientos viscoelásticos similares caracterizados por un corto tiempo de relajación. Los hallazgos destacan diferencias en la rugosidad superficial del ovario en distintas etapas de la vida. El tejido ovárico en edad reproductiva es más suave en comparación con las etapas prepuberales y menopáusicas, que presentan una mayor rugosidad y rigidez. Estos datos se obtuvieron mediante la reconstrucción 3D de imágenes SEM.
Conclusión	El estudio proporciona pruebas concluyentes de un vínculo entre la rigidez de la matriz extracelular y la fertilidad al comparar diferentes etapas de transformación ovárica relacionadas con la vida reproductiva de una mujer.
Fuente bibliográfica	Ouni, E., Peaucelle, A., Haas, K. T., Van Kerk, O., Dolmans, M., Tuuri, T., Ojala, M., & Amorim, C. A. (2021). A blueprint of the topology and mechanics of the human ovary for next-generation bioengineering and diagnosis. Nature Communications, 12(1). https://doi.org/10.1038/s41467-021-25934-4

Tabla 25: La inyección intra ovárica de plasma rico en plaquetas en el tejido ovárico promovió el rejuvenecimiento en el modelo de insuficiencia ovárica prematura en ratas y restableció la tasa de ovulación mediante la modulación de la angiogénesis.

Título	La inyección intra ovárica de plasma rico en plaquetas en el tejido ovárico promovió el rejuvenecimiento en el modelo de insuficiencia ovárica prematura en ratas y restableció la tasa de ovulación mediante la modulación de la angiogénesis.
Órgano	Ovario.

<u>Objetivos</u>	Evaluar la eficacia del plasma rico en plaquetas en el rejuvenecimiento ovárico en un modelo de insuficiencia ovárica prematura inducido experimentalmente con dióxido de 4-vinilciclohexeno (VCD) en ratas.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Plasma rico en plaquetas.
<u>Especie de experimento</u>	Ratas.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	<u>: Las ratas se dividieron en dos grupos principales:</u> Se les inyectó por vía intraperitoneal 160 mg/kg de dióxido de 4-vinilciclohexeno utilizando un disolvente apropiado durante 15 días consecutivos. Las ratas del grupo de control recibieron un volumen salino normal. Después de 15 días, se sacrificaron aleatoriamente tres ratas de cada grupo y se tomaron muestras de suero y tejido ovárico para confirmar el desarrollo de insuficiencia ovárica prematura. <u>: Protocolo de enriquecimiento de plasma rico en plaquetas:</u> Se utilizaron kits de plasma rico en plaquetas diseñados para el aislamiento de este en diferentes niveles de enriquecimiento. En resumen, se seleccionaron cinco ratas hembra sanas (9 a 10 semanas de edad), se anestesiaron profundamente las ratas y se les extrajo sangre directamente del corazón con una jeringa. La mezcla de sangre y anticoagulante se centrifugó en dos ocasiones, y se descartó el sobrenadante y se retuvo el plasma rico en plaquetas. El número total de plaquetas tras el enriquecimiento se elevó. Se inyectaron plasma rico en plaquetas recientemente en los ovarios. <u>: Inyección intra ovárica de plasma rico en plaquetas:</u> Después de la inducción del insuficiencia ovárica prematura se dividió en 4 grupos: Grupo 1: Ratas insuficiencia ovárica prematura asignadas para inyección intraovárica de baja concentración. Grupo 2: Ratas con inyección intraovárica de plasma rico en plaquetas altamente concentrado. Grupo 3: Ratas insuficiencia ovárica prematura con inyección intraovárica de solución salina normal (impostor). Grupo 4: Ratas insuficiencia ovárica prematura sin ninguna interferencia (PDI). Grupo de control: Sin ninguna intervención. El procedimiento quirúrgico se realizó bajo anestesia general (90 mg/kg de ketamina y 10 mg/kg de solución de xilazina) y luego se realizó una pequeña incisión a ambos lados para acceder a los ovarios izquierdo y derecho. La inyección ovárica se realizó de acuerdo con las especificaciones de sus grupos enriquecidos y solución salina normal en el volumen final de 10 µL utilizando la jeringa de insulina. No se observaron fugas durante ni después del procedimiento. <u>: Muestreo y estudios histopatológicos:</u> Se obtuvieron muestras de ovario cada dos semanas después de la inyección de plasma rico en plaquetas durante dos meses. Las ratas fueron seleccionadas aleatoriamente y sacrificadas humanamente (sobredosis de ketamina y xilazina) y se les quitó el ovario. Se eliminó, se enjugó con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se fijó en formalina al 10% (Merck). Se tomaron muestras de los ovarios derechos para evaluaciones de expresión genética y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su uso. Las muestras se incluyeron en parafina y se prepararon tres secciones consecutivas utilizando. Luego, las secciones se tiñeron con una solución de tinción de hematoxilina y eosina. Se registró el número de folículos primarios, secundarios y antrales y se comparó con el de las ratas de control. <u>: Examen de la densidad vascular (mediante tinción inmunohistoquímica):</u> Se realizó tinción del anticuerpo anti α-SMA. <u>: Medición de los niveles séricos de FSH mediante ELISA:</u> Para evaluar las posibles correlaciones y retroalimentación entre los niveles séricos de FSH y las condiciones de insuficiencia ovárica prematura antes y después del tratamiento con plasma rico en plaquetas, medimos los niveles sistémicos de FSH utilizando un kit ELISA; se recogieron muestras de sangre después de la inyección de plasma rico en plaquetas. Se recogieron muestras de suero después de centrifugación y se almacenaron a -80 °C hasta su uso. <u>: Prueba de apareamiento:</u> Para examinar el estado de fertilidad de las ratas, las tres ratas restantes de todos los grupos fueron enjauladas con ratas macho con fertilidad comprobada durante cinco días. Posteriormente, cada rata hembra fue enjaulada individualmente hasta el parto y se registró el número de camadas sanas por nacimiento.

<u>Resultado</u>	La inducción de insuficiencia ovárica prematura fue exitosa mediante el agotamiento de folículos morfológicamente normales en ratas después del tratamiento con dióxido de 4-vinilciclohexeno en comparación con las ratas de control. La inyección de plasma rico en plaquetas redujo el número y la extensión de la atresia folicular, posee buena regulación inflamatoria, moduló los valores de la expresión de ambos ANGPT2 y KDR y las transcripciones (en ratas insuficiencia ovárica prematura sin la administración de plasma rico en plaquetas aumentaron significativamente debido a la inflamación), mejora en el recuento de camadas en las ratas insuficiencia ovárica prematura que recibieron plasma rico en plaquetas en comparación con el grupo insuficiencia ovárica prematura no tratado, protege los folículos normales de la degradación y atresia de las sustancias químicas ovotóxicas, estimula la angiogénesis y posee buena capacidad de rejuvenecimiento tisular.
<u>Conclusión</u>	El plasma rico en plaquetas puede restaurar parcialmente la función de los ovarios con insuficiencia ovárica prematura. Es necesario encontrar una dosis optimizada de plasma rico en plaquetas en cualquier aplicación específica para obtener los mejores resultados. Además, la terapia con plasma rico en plaquetas es relativamente barata, segura y no requiere procedimientos complicados para su administración, por lo que, en general, el plasma rico en plaquetas podría considerarse como una supuesta estrategia alternativa para una variedad de complicaciones relacionadas con la infertilidad femenina, incluida la insuficiencia ovárica prematura.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Ahmadian, S., Sheshpari, S., Pazhang, M., Miranda-Bedate, A., Beheshti, R., Abbasi, M. M., Nouri, M., Rahbarghazi, R., & Mahdipour, M. (2020). Intra-ovarian injection of platelet-rich plasma into ovarian tissue promoted rejuvenation in the rat model of premature ovarian insufficiency and restored ovulation rate via angiogenesis modulation. Reproductive Biology and Endocrinology, 18(1). https://doi.org/10.1186/s12958-020-00638-4

Tabla 26: Características de un tejido ovárico humano descelularizado creado mediante protocolos combinados y su interacción con células mesenquimales endometriales humanas.

<u>Título</u>	Características de un tejido ovárico humano descelularizado creado mediante protocolos combinados y su interacción con células mesenquimales endometriales humanas.
<u>Órgano</u>	Ovario.
<u>Objetivos</u>	Optimizar el método de descelularización de fragmentos de ovario humano mediante diferentes concentraciones de dodecilsulfato de sodio (SDS).
<u>Biomaterial utilizado</u>	Tejido ovárico descelularizado (DOT).
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	<u>Recolección de tejido ovárico humano:</u> Ovarios humanos de individuos de 18 a 25 años sometidos a cirugía transexual. Las muestras se dividieron al azar en grupo control nativo y otro grupo experimental descelularizado. <u>Protocolo de descelularización ovárica:</u> el grupo experimental se sometió a 3 ciclos de congelación/ descongelación, luego se sumergieron en un detergente llamado Triton X-100 y se

	lavaron para la eliminación de dicho detergente, posteriormente se colocaron aleatoriamente en soluciones de dodecilsulfato de sodio (SDS) de distintas concentraciones (0,1; 0,5; 1 y 1,5 %). - Evaluación de contenido de ADN: Se usó un aislante de material genético llamado Trizol-Kit para aislar el contenido de ADN y lo midieron con un espectrofotómetro. - Evaluación histológica: Muestra nativa y experimental se tiñó con hematoxilina y eosina para evaluar su morfología. También el grupo experimental se tiñó con naranja de acridina y se observó la morfología en un microscopio de fluorescencia. - Recolección y cultivo de tejido endometrial humano: Se extrajeron las muestras de mujeres de 35 a 45 años, sometidas a histerectomía, que no tenían una condición patológica ni estaban en tratamiento hormonal exógeno al menos hace 3 meses. En las muestras cultivadas se evaluaron marcadores mesenquimatosos (CD90) y no mesenquimatosos (CD31 y Cd34). - Prueba de toxicidad: El andamio descelularizado de tejido ovárico, se sumergió en etanol al 70%, luego en un tampón de fosfato alcalino con penicilina y estreptomicina. Las células mesenquimales endometriales humanas se cocultivaron con DOT (tejido ovárico descelularizado) suplementado con suero bovino fetal, penicilina y estreptomicina, y se incubaron a 37°C con 5% de CO₂. Después de 48 horas, se retiraron los andamios y las células restantes se sometieron a un ensayo de viabilidad celular. - Estudio cuantitativo de los componentes de matriz extracelular: Fijación de muestras nativas y DOT en formalina al 10%, se deshidrataron en etanol, fueron aclaradas en xileno, luego se tiñeron con tricrómico de Masson, azul Alcian y ácido peryódico de Schiff, para evaluar los componentes presentes como el colágeno, glicosaminoglicanos y carbohidratos. - Inmunohistoquímica para componentes de la matriz extracelular: Se prepararon 3 conjuntos de secciones de tejido y se desparafinaron, hidrataron y se lavaron en solución salina tamponada con Tris y tween 20 como agente reparador de antígeno para desenmascarar el epítipo antigénico. - Micro espectroscopía confocal Raman: Se utilizó para cuantificar colágeno tipo I y IV, elastina y glucosaminoglicanos. - Ensayo de biodegradación: Los fragmentos de tejido ovárico descelularizados se secaron por liofilización, estos se dividieron en grupos tratados con collagenasa tipo I al 0,1% (experimental) y no tratados (control). - Recelularización de andamios descelularizados: Después de la confirmación de células mesenquimales endometriales por citometría de flujo, se marcaron con colorante fluorescente y se sembraron en DOT mediante un método de centrifugado. Estos andamios se colocaron nuevamente en un medio con suero bovino fetal al 10%, 100 IU/mL de penicilina y 75 mcg/L de estreptomicina, y se incubaron a 37°C con 5% de CO₂. 1/3 del total de las muestras se mantuvieron en ese medio durante 7 días y en los 2/3 de muestra restante el medio se cambiaba una vez cada 3 días. Finalmente, los andamios se seccionaron con un criostato y luego se visualizaron con un microscopio fluorescente.
Resultado	Muestra sometida a tres ciclos de congelación/ descongelación más tratamiento con Tritón x -100 al 1% durante 15 horas y SDS al 0.5% durante 72 horas, mostró un alto nivel de conservación del contenido de la MEC y sin presencia de toxicidad. Por otro lado, la micrografías electrónicas demostraron que la porosidad y estructuras de las fibras de la matriz extracelular en el grupo descelularizado era similar al ovario nativo, además las células mesenquimales endometriales humanas se unieron y penetraron en el armazón del andamio descelularizado.
Conclusión	Concluyeron que este protocolo es un método eficaz para descelularizar el tejido ovárico humano con una alta conservación de contenido de matriz extracelular y las células mesenquimales endometriales interactuaron con éxito con el andamio creado.
Fuente bibliográfica	Sistani, M. N., Zavareh, S., Valujerdi, M. R., & Salehnia, M. (2021). Characteristics of a decellularized human ovarian tissue created by combined protocols and its interaction with human endometrial mesenchymal cells. Progress in Biomaterials, 10(3), 195-206. https://doi.org/10.1007/s40204-021-00163-6

Tabla 27: Un novedoso prototipo de ovario artificial basado en fibrina que se asemeja al tejido ovárico humano en términos de arquitectura y rigidez.

<u>Título</u>	Un novedoso prototipo de ovario artificial basado en fibrina que se asemeja al tejido ovárico humano en términos de arquitectura y rigidez.
<u>Órgano</u>	Ovario.
<u>Objetivos</u>	Optimizar la composición de la matriz de fibrina para imitar la arquitectura del tejido ovárico humano para la encapsulación e injerto de folículos ováricos humanos.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Corteza ovárica humana.
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Recolección de muestras:</u> Se obtuvieron muestras de corteza ovárica de mujeres entre los 28 y 34 años, estas muestras se mantuvieron congeladas. - <u>Reconstitución del coágulo de fibrina:</u> Se diluyó fibrinógeno en solución salina para obtener cuatro concentraciones distintas (12,5; 30; 50;75 mg/ml) y trombina en cloruro de calcio para alcanzar concentraciones de 1, 5 y 75 UI/mL, por otro lado, para la polimerización de fibrina se mezclaron 100 microlitros de la concentración de fibrinógeno con 100 microlitros de trombina, las mezclas se fijaron en solución de Karnovsky (glutaraldehído al 2,5%) y paraformaldehído al 4% en una solución salina tamponada con fosfato. - <u>Análisis morfológico de la corteza ovárica humana y diferentes matrices de fibrina:</u> Fragmentos de ovario y cuatro matrices de fibrina diferentes se sometieron a fijación con solución de Karnovsky, se sumergieron en glicerol al 30% y nitrógeno líquido, también se lavaron en una solución tamponada de fosfato y se fijaron con una solución de tetróxido de osmio al 2%. Luego las muestras se deshidrataron, secaron, recubrieron con oro y analizaron mediante microscopía de barrido. - <u>Análisis reológico de las propiedades mecánicas de diferentes formulaciones de fibrina:</u> Se midió la rigidez de cuatro matrices de fibrina diferentes, se investigaron las propiedades viscoelásticas lineales. - <u>Descongelación de corteza ovárica congelada y aislamiento de folículos:</u> Crioviales de corteza congelada fueron descongeladas y procesados para el aislamiento de folículos por medio de una incubación en 10mL de solución tamponada de fosfato salino con calcio y magnesio. - <u>Encapsulación de folículos y análisis histológico:</u> Solo 3 combinaciones de F/T (relación fibrina y trombina) se utilizaron para incrustar folículos humanos, para la encapsulación de los folículos se depositó una gota de 12 microlitros de fibrinógeno en una placa de Petri con 14 a 50 folículos preantrales aislados y a la vez se agregó 15 microlitros de trombina. Después de la polimerización, el coágulo de fibrina se desprendió suavemente, se cubrió con agarosa derretida al 2% y se fijó inmediatamente con formalina al 4%. Los coágulos de fibrina se colocaron en parafina para histología, luego se tiñeron con hematoxilina y eosina para comparar los folículos encapsulados.
<u>Resultado</u>	Las formulaciones de fibrina en las cuales existía mayor concentración de F/T (relación fibrina y trombina), se vieron con un aumento en la consistencia, pero la porosidad y diámetro disminuyeron. Específicamente la combinación F50/T50 mostraron valores de espesor de fibra similares a los de la corteza ovárica.

<u>Conclusión</u>	Entre las diferentes concentraciones de matriz de fibrina analizadas, la que contenía F50/T50 desarrolló una ultraestructura y rigidez similar a la corteza ovárica humana, estos hallazgos son esenciales en la arquitectura de un ovario artificial.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Chiti, M. C., Dolmans, M., Mortiaux, L., Zhuge, F., Ouni, E., Shahri, P. A. K., Van Ruymbeke, E., Champagne, S., Donnez, J., & Amorim, C. A. (2017). A novel fibrin-based artificial ovary prototype resembling human ovarian tissue in terms of architecture and rigidity. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 35(1), 41-48. https://doi.org/10.1007/s10815-017-1091-3

Tabla 28: Primer paso en el desarrollo de un andamio de fibrina biodegradable en 3D para un ovario artificial.

<u>Título</u>	Primer paso en el desarrollo de un andamio de fibrina biodegradable en 3D para un ovario artificial.
<u>Órgano</u>	Ovario.
<u>Objetivos</u>	Desarrollar una estructura de fibrina que permita la supervivencia y desarrollo de folículos y células ováricas aisladas.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Tejido ovárico humano.
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental
<u>Descripción del experimento</u>	:- <u>Colección de tejido:</u> Se obtuvieron biopsias de tejido ovárico humano de cuatro pacientes entre 26 y 51 años. :- <u>Aislamiento de células del estroma ovárico:</u> El tejido ovárico humano se transfirió a un medio de 10 ml de solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco con calcio y magnesio, la cual fue suplementada con una solución de Liberase. La actividad enzimática se inactivó añadiendo un volumen igual de solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin calcio ni magnesio, suplementado con suero bovino fetal al 10%, después de la centrifugación, el sedimento se transfirió a un medio compuesto por suero fetal bovino al 10% penicilina y estreptomicina. :- <u>Cultivo in vitro de células estromales de ovario humano aisladas:</u> Se sembraron células del estroma ovárico en matraces de plástico, estos fueron incubados en condiciones óptimas y finalmente se obtuvo una concentración final de 10.000 células del estroma ovárico en 5 microlitros de medio. :- <u>Formación de coágulos de fibrina:</u> Se reconstruyó el fibrinógeno en una solución que contenía aprotinina bovina y un inhibidor de la fibrinólisis y para la reconstrucción de trombina se utilizó cloruro de calcio. El fibrinógeno reconstituido se diluyó en solución salina a diversas concentraciones y finalmente dieron como resultado 5 concentraciones diferentes de fibrinógeno y cinco de trombina. También se realizó otro procedimiento donde se depositó una gota de 12,5 microlitros de fibrinógeno en una placa de Petri con 50.000 células de ovario humano en 5 microlitros de medio, además se mezclaron 12,5 microlitros de trombina, para cada combinación se agregó un coágulo de fibrina, el cual se desprendió suavemente, se cubrió con agarosa derretida al 2% y se fijó inmediatamente con formaldehído al 4%, estos se colocaron en parafina para histología y otro grupo se fijó en glutaraldehído al 2,5% para otro tipo de análisis.

	<u>Análisis de la densidad celular e histológico:</u> Los coágulos de fibrina incluidos en parafina se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) para análisis histológico y con una tinción inmunohistoquímica para evaluar la densidad celular. <u>Proliferación de células del estroma ovárico:</u> En cada combinación de F/T (relación fibrina y trombina) en diferentes condiciones se sembraron e incubaron anticuerpos específicos para medir la actividad proliferativa. <u>Apoptosis de las células del estroma ovárico:</u> La apoptosis se analizó mediante marcaje con desoxinucleotidil transferasa terminal (TÚNEL) para detectar la fragmentación del ADN utilizando un kit de muerte celular <i>in situ</i> llamado TMR red. <u>Degradación de la fibrina:</u> Se evaluó tanto macroscópica como histológicamente y en cultivo <i>in vitro</i> se midieron por coágulos y presencia de una matriz de fibrina residual. <u>Análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM):</u> Después de la fijación en la solución de glutaraldehído al 2,5% las muestras se deshidrataron por medio de etanol, este disolvente se reemplazó por dióxido de carbono líquido y finalmente se recubrieron con una pulverización de oro para ser observados en el microscopio electrónico de barrido.
<u>Resultado</u>	De nueve combinaciones de F/T, solo cinco cumplieron los criterios para futuras aplicaciones clínicas; y solo dos mostraron una supervivencia y proliferación adecuada, con un buen soporte para las células estromales y una densidad positiva.
<u>Conclusión</u>	Formulaciones de fibrina con bajas concentraciones de fibrinógeno y trombina son una opción para la construcción de una matriz 3D biodegradable y biocompatible para células del estroma ovárico.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Luyckx, V. A., Dolmans, M., Vanacker, J., De Azevedo Scalercio, S. R., Donnez, J., & Amorim, C. A. (2013). First step in developing a 3D biodegradable fibrin scaffold for an artificial ovary. <i>Journal of Ovarian Research</i> , 6(1). https://doi.org/10.1186/1757-2215-6-83

Tabla 29: El trasplante *in vivo* de construcciones ováricas encapsuladas en 3D en ratas corrige las anomalías de la insuficiencia ovárica.

<u>Título</u>	El trasplante <i>in vivo</i> de construcciones ováricas encapsuladas en 3D en ratas corrige las anomalías de la insuficiencia ovárica.
<u>Órgano</u>	Ovario.
<u>Objetivos</u>	Buscar métodos de administración de terapia de reemplazo hormonal que puedan mantener efectos beneficiosos con perfiles de seguridad mejorados para el tratamiento de afecciones asociadas con la pérdida de la función ovárica.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Alginato.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	Se utilizaron ratas hembra inmaduras de 21 días de edad como donantes para para el aislamiento de células de la granulosa y de la teca y ratas hembra maduras de 3 meses de edad sirvieron como receptoras de construcciones de células ováricas creadas mediante bioingeniería.

	- <u>Aislamiento y purificación de células:</u> Células endocrinas fueron aisladas de ovarios de ratas inmaduras, se limpiaron de tejidos extraños, se perforaron y cortaron en trozos para liberar las células de la granulosa y teca suelta en los folículos, posterior a esto se purificaron. - <u>Cultivo células de granulosa y teca:</u> Se cultivaron en medio McCoy con suplementación de diferentes hormonas para mantener sus respectivos fenotipo (hormona folículo estimulante, estrógeno y hormona luteinizante), una vez que alcanzaron una confluencia de 80% a 90% se retiraron del matraz de cultivo. - <u>Encapsulación de construcción de tejido ovárico:</u> Las construcciones de tejido ovárico que imitan la arquitectura folicular se fabricaron mediante técnicas de encapsulación. - <u>Trasplante de ovariectomía bilateral de construcciones de células ováricas obtenidas mediante bioingeniería o administración de terapia de reemplazo hormonal farmacológica:</u> Ratas de 3 meses fueron sometidas a ovariectomía bilateral. Se recogieron muestras de sangre semanalmente para seguir los cambios en los niveles plasmáticos de E2, PAG4, FSH y LH en estas ratas. Una vez alcanzado su valor inicial, las ratas con ovariectomía bilateral se dividieron en tres cohortes (7 grupos en la primera cohorte, 3 grupos en la segunda cohorte y 4 grupos en la tercera cohorte) que comprenden un total de 14 grupos donde los animales fueron asignados aleatoriamente dentro de cada cohorte. Tras el análisis de los niveles plasmáticos de E2, PAG4, FSH y LH, se seleccionaron cinco tratamientos de terapia de reemplazo hormonal farmacológica diferentes para imitar o superar los niveles plasmáticos logrados con las construcciones de células ováricas genéticamente modificadas y para simular los niveles plasmáticos temporales que podrían obtenerse en la administración de terapia de reemplazo hormonal farmacológica. Estos cinco grupos de fueron: (1) solo progesterona, (2) dosis baja de estradiol solo, (3) dosis altas de estradiol únicamente, (4) dosis bajas de estradiol + progesterona, y (5) dosis altas de estradiol + progesterona. Los grupos sexto y séptimo de la primera cohorte fueron los controles operados simuladamente (ovario intacto) y ovariectomía bilateral (con gránulos de placebo que no contienen hormonas), los cuales actuaron como controles internos en comparación con la segunda cohorte. Para la terapia de reemplazo hormonal farmacológica, las dosis de estrógeno y/o progesterona administradas se administraron mediante gránulos implantados por vía subcutánea. Los gránulos se liberaron durante 90 días para coincidir con la escala de tiempo de las mediciones tomadas para las construcciones de terapia de reemplazo hormonal basada en células y contenían 17βestradiol, progesterona o nada (control con placebo). En la segunda cohorte, a un grupo de ratas con ovariectomía bilateral se les implantaron construcciones en el epiplón a modo de bolsa. Un segundo grupo de ratas con ovariectomía bilateral recibió microcápsulas en blanco sin células (grupo ovariectomía no tratado), y el tercer grupo fue operado de forma simulada (ovario intacto). En la tercera cohorte, a dos grupos de ratas con ovariectomía se les implantó Ca en sus bolsas de epiplón. Un tercer grupo de ratas con ovariectomía bilateral recibieron microcápsulas en blanco sin células (grupo ovariectomía no tratado) y el cuarto grupo formado por ratas con ovarios intactos y operadas de forma simulada sirvieron como controles para la tercera cohorte. - <u>Medición de plasma 17β-estradiol progesterona testosterona FSH LH e inhibina:</u> Para evaluar las funciones endocrinas de las construcciones de tejido implantadas en las ratas ovariectomizadas, los niveles de E2, PAG4, FSH y LH se midieron en las muestras de plasma obtenidas de los quince grupos experimentales de ratas. - <u>Medición de osteocalcina plasmática y c-telopéptido de colágeno:</u> Evaluar el restablecimiento del equilibrio en el metabolismo óseo después de la terapia de reemplazo hormonal basada en células (cohorte 2), los niveles de marcadores de recambio óseo, osteocalcina (OCN) (marcador de formación ósea) y c-telopéptido de colágeno (CTx) (marcador de resorción ósea), se midieron en las muestras de plasma de todos los grupos experimentales de ratas en la segunda cohorte (terapia de reemplazo hormonal basada en células). - <u>Integridad de las construcciones en los explantes de bolsas de epiplón:</u> 90 días después del trasplante, se resecaron las bolsas de epiplón. Después de un examen macroscópico para detectar cualquier tejido fibrótico alrededor de la bolsa de epiplón, se recuperaron las construcciones de terapia de reemplazo hormonal basada en células de la bolsa de epiplón y se tomaron imágenes de las construcciones bajo un microscopio de contraste de fases. - <u>Análisis vivo/muerto de células en las construcciones después de 90 días in vivo:</u> La viabilidad de las células encapsuladas en las construcciones de terapia de reemplazo hormonal basada en células se evaluó mediante un ensayo vivo/muerto. Brevemente, las construcciones recuperadas de las bolsas de epiplón se transfirieron a una placa de 24 pocillos y se incubaron. Luego se observaron las
--	--

	microcápsulas bajo un microscopio de fluorescencia invertida y se tomaron imágenes. El número de células vivas y muertas se determinó cualitativamente. : Absorciometría de rayos X de energía dual y exploraciones por microtomografía computarizada: La medición de absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) se realizó utilizando un densitómetro de rayos X Hologic QDR-4500 Elite Fan Beam. La distribución de grasa y la densidad mineral ósea (DMO) de todo el cuerpo <i>in vivo</i> se midieron en ratas anestesiadas utilizando un software para animales pequeños. : Peso uterino e histología: Se extirpó tejido uterino de cada rata al final del estudio, se tomaron imágenes a nivel macroscópico, se pesó y se fijó en paraformaldehído al 4%. Después de 24 h los tejidos fueron lavados, procesados e incluidos en bloques de parafina. Los bloques fueron seccionados en 5µm de espesor y teñidos con hematoxilina y eosina. Se evaluaron las secciones longitudinales de los úteros para determinar el grosor de perimetrio, miometrio y endometrio.
Resultado	Para todos los estudios <i>in vivo</i>, sólo se utilizaron construcciones isogénicas basadas en células de ovario para demostrar la prueba de concepto, y las construcciones se implantaron en bolsas omentales creadas en ratas con ovariectomía bilateral. La recuperación de las construcciones a los 90 días después de la implantación mostró que las construcciones permanecían en la bolsa omental y que la región omental alrededor de las cápsulas estaba bien vascularizada. Además, no se observó ninguna evidencia de encapsulación fibrosa mediante inspección macroscópica o histología. Las células permanecieron encapsuladas y también mantuvieron altos niveles de viabilidad a lo largo del tiempo de duración de los estudios. El tratamiento terapia de reemplazo hormonal basada en células produjo mejores resultados óseos (DMO y porosidad ósea) que los tratamientos de reemplazo hormonal farmacológico. Las evaluaciones histológicas del tejido uterino revelaron que las construcciones de bioingeniería restauraron o mantuvieron la capa endometrial del útero que se atrofió en ratas con ovariectomía a una apariencia esencialmente similar al tejido uterino de ratas con ovarios intactos.
Conclusión	Destaca la utilidad potencial de la terapia de reemplazo hormonal basada en células para el tratamiento y estudio de condiciones asociadas con la pérdida de funcionalidad de los ovarios. Si bien este estudio proporciona una prueba de concepto para terapia de reemplazo hormonal basada en células sufre limitaciones ya que es solo una implantación de constructo de base isogénica (que proviene de un individuo genéticamente idéntico del que lo recibe) y se requerirían más estudios en entornos alogénicos o xenogénicos ya que es muy poco probable que las pacientes que recibieron este tipo de tratamiento tengan suficientes células ováricas autólogas para el trasplante.
Fuente bibliográfica	Sittadjody, S., Saul, J. M., McQuilling, J. P., Joo, S., Register, T. C., Yoo, J. J., Atala, A., & Opara, E. C. (2017). In vivo transplantation of 3D encapsulated ovarian constructs in rats corrects abnormalities of ovarian failure. <i>Nature Communications</i>, 8(1). https://doi.org/10.1038/s41467-017-01851-3

Tabla 30: Bioimpresión tridimensional de ovarios artificiales mediante un método basado en extrusión utilizando biotinta de Gelatina-metacrilato.

Título	Bioimpresión tridimensional de ovarios artificiales mediante un método basado en extrusión utilizando biotinta de Gelatina-metacrilato.
Órgano	Ovario.
Objetivos	Diseñar y fabricar un ovario artificial impreso en tres dimensiones (3D).
Biomaterial utilizado	Gelatina-Metacrilato (GelMA) y alginato.
Especie de experimento	No aplica.

Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	Se utilizaron células de tumores ováricos comerciales y células somáticas de ovario de cultivo primario para realizar la impresión 3D cargada de células. Los resultados se evaluaron mediante ensayos vivos/muertos y detección TUNEL (método común para detectar fragmentación de ADN debida a cascadas de señalización apoptóticas). Se sembraron folículos ováricos murinos en el andamio ovárico y se registraron sus diámetros todos los días. Finalmente se realizó la maduración <i>in vitro</i> y se recolectaron y observaron ovocitos ovulados. - Preparación biotinta: Se preparó a una concentración del 10% según instrucciones del fabricante. Los polvos de biotinta se disolvieron en medio de 5a de McCoy, posterior se esterilizó. - Aislamiento y cultivo de células somáticas de ovario: Ratones hembra fueron sacrificados, sus ovarios fueron extirpados. Las células somáticas ováricas están compuestas por células intersticiales de la teca (TIC), células de la granulosa (GC) y células mesenquimales. Las células de la granulosa se extrajeron por punción de los ovarios y los tejidos residuales se reservaron para células intersticiales de la teca y células mesenquimales. Se incubaron, posteriormente se centrifugaron y finalmente se fijaron para la tinción de inmunofluorescencia. Las células de paso 2 se triptinizaron y se prepararon para la bioimpresión cargada de células. - Impresión 3D y bioimpresión: Para la impresión basada en extrusión, una biotinta sola o una cargada con células somáticas de ovario se preparó en una jeringa estéril. En la solución mixta se agregó la proporción de volumen de Gel MA según instrucciones del fabricante. Posteriormente las construcciones se cortaron en partes iguales. - Pruebas de Hinchazón: Se retículo en forma de cuadrícula cuadrada en una placa Petri, se sumergieron durante 48 hrs y posterior se pesaron. Luego se liofilizaron y pesaron nuevamente para determinar el peso seco de cada cubo. - In Vitro degradación de collagenasa: Muestras se incubaron en soluciones de collagenasa tipo I, II y IV a 37°C y se fotografiaron a los 20, 40 y 80 min. El grado de degradación se definió como el volumen residual de la estructura dividido por su volumen inicial. - Cultivo in vitro ovulación de folículos: Se sembraron folículos en andamios impresos 3D precortados se añadió medio de crecimiento y se cultivaron en medios de maduración. - Ensayo de células vivas/muertas: Cuantificación de la viabilidad celular por microscopía de fluorescencia. - Tinción de inmunofluorescencia. - Viabilidad celular por ensayo de azul de tripano: Posterior a la tinción las células brillantes son las contadas como vivas. - Tinción TUNEL: Se observa fluorescencia roja de las células apoptóticas contra el fondo azul en el microscopio.
Resultado	Se evaluó un polímero natural (alginato), un polímero natural químicamente modificado (GelMA) y su combinación (GelMA-alginato) en un sistema de impresión 3D. En el caso del alginato, se encontró que los andamios eran frágiles e inestables. GelMA-alginato formó andamios bien estructurados pero la rejilla era demasiado opaca para observar los folículos con claridad. Además, se tuvo que utilizar LAP, baja temperatura y agentes reticulantes de iones de calcio para solidificar la biotinta de alginato GelMA, que es más complicada y costosa que usar una biotinta de un solo componente. GelMA solo formó rejillas regulares, suaves y claras. También se pueden recortar con pinzas, de modo que los andamios se puedan usar para procesamiento posterior. Por lo tanto, el alginato y el GelMA-alginato se eliminaron de futuras investigaciones y se utilizó GelMA en experimentos posteriores.
Conclusión	El sistema de cultivo de impresión 3D basado en Gel MA es una opción viable para el desarrollo, crecimiento y transferencia folicular, se muestra prometedor para la aplicación clínica en el tratamiento de condiciones endocrinas y reproductivas femeninas.
Fuente bibliográfica	Wu, T., Gao, Y. Y., Su, J., Tang, X. N., Chen, Q., Ma, L. W., Zhang, J. J., Wu, J. M., & Wang, S. X. (2022). Three-dimensional bioprinting of artificial ovaries by an extrusion-based method using gelatin-methacryloyl bioink. <i>Climacteric: The Journal of the International Menopause Society</i>, 25(2), 170–178. https://doi.org/10.1080/13697137.2021.1921726

Tabla 31: La melatonina y el hidrogel de alginato-fibrina cargado de células endoteliales promovieron la angiogénesis en ovarios de rata criopreservados/descongelados trasplantados a sitios heterotópicos.

<u>Título</u>	La melatonina y el hidrogel de alginato-fibrina cargado de células endoteliales promovieron la angiogénesis en ovarios de rata criopreservados/descongelados trasplantados a sitios heterotópicos.
<u>Órgano</u>	Ovarios.
<u>Objetivos</u>	Inhibir o reducir el daño isquémico a los folículos ováricos a través del suministro de sangre post trasplante de Ovarios criopreservados/descongelados a sitios heterotópicos para prevenir la atresia folicular.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Hidrogel Alginato-Fibrina.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Preparación del tejido ovárico:</u> Extracción muestras de tejido ovárico para someter a procedimientos experimentales posteriores, se utilizaron ratas, a quienes se les extirparon tejidos ováricos. - <u>Protocolo de vitrificación/descongelación:</u> Las muestras se sumergieron en soluciones de equilibrio y vitrificación de diferentes concentraciones. Luego los ovarios se colocaron en criotubos con una solución de vitrificación y se expusieron al vapor de nitrógeno (-196 °C). Las muestras se descongelaron para la posterior extracción del tejido ovárico de los criotubos. - <u>Fabricación del hidrogel Alginato-Fibrina:</u> Se preparó utilizando fibrinógeno de plasma bovino y trombina, ambos disueltos en una solución salina. Para el hidrogel de alginato sódico (Alg sódico), se disolvió alginato sódico en el tampón Krebs-Ringer HEPES sin calcio. Se preparó el hidrogel combinando 2% de alginato sódico, 1% de fibrinógeno y 5 UI de trombina. - <u>Análisis de propiedades fisicoquímicas:</u> Cálculo de tasa de degradabilidad y capacidad de engrosamiento. - <u>Enriquecimiento de CD144+ células endoteliales que utilizan células activadas magnéticamente:</u> Para promover la capacidad de angiogénesis del hidrogel Alginato-Fibrina. - <u>Autotrasplante de ovarios criopreservados/descongelados:</u> Los ovarios procesados se colocaron en el hidrogel alginato-Fibrina, al cual se le añadió melatonina y células endoteliales CD144+.
<u>Resultado</u>	El análisis demostró que el hidrogel Alginato-Fibrina interactuó adecuadamente con melatonina y las células endoteliales beneficiando angiogénesis y reducción de fibrosis. Se observó que el hidrogel Alginato-Fibrina tenía una mayor tasa de degradación y engrosamiento en comparación con el hidrogel de Alginato solo. Esto sugiere que esta estrategia puede ser efectiva para mejorar la viabilidad del tejido ovárico después del trasplante (disminuyendo daño isquémico post trasplante a través de la promoción de la angiogénesis y suplementación sanguínea).
<u>Conclusión</u>	El hidrogel Alginato-Fibrina por sí solo no es un soporte adecuado para promover la angiogénesis y reducir la degeneración causada por la isquemia. La coadministración de melatonina con homólogos celulares adecuados sirve para impedir la lesión de órganos mediante la estimulación de la vascularización.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Izadpanah, M., Del Bakhshayesh, A. R., Bahroudi, Z., Seghinsara, A. M., Beheshti, R., Mahdipour, M., Zarnaghi, M. R., Hassanpour, P., Mardi, N., Rahbarghazi, R., & Abedelahi, A. (2023). Melatonin and endothelial cell-loaded alginate-fibrin hydrogel promoted angiogenesis in rat

	cryopreserved/thawed ovaries transplanted to the heterotopic sites. Journal of biological engineering, 17(1), 23. https://doi.org/10.1186/s13036-023-00343-x
--	---

Tabla 32: La fibrina facilita el uso de células madre mesenquimales para mejorar el síndrome de ovario poliquístico en ratas.

<u>Título</u>	La fibrina facilita el uso de células madre mesenquimales para mejorar el síndrome de ovario poliquístico en ratas.
<u>Órgano</u>	Ovario.
<u>Objetivos</u>	Investigar si la inyección intra ovárica de células madre mesenquimales derivadas de cordón umbilical solas o dentro de hidrogeles de fibrina puede restaurar la función ovárica en un modelo de rata con síndrome de ovario poliquístico. Identificar dianas terapéuticas para la tecnología de reproducción asistida.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Células madre de cordón humano e hidrogel de fibrina.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental controlado.
<u>Descripción del experimento</u>	<u>- Cultivo celular en geles de fibrina:</u> Los geles de fibrina, compuestos por 10 mg/ml de fibrinógeno y 5 U/ml de trombina, se colocaron en pocillos y en un primer grupo se cultivaron células madre mesenquimales en la superficie del gel. En otro grupo, las células fueron mezcladas con el gel y luego se cultivaron. A los días 1, 3, 5 y 7 las células se digirieron con natoquinasa, se cultivaron con agente CCK-8 y se analizaron. <u>- Microscopía electrónica de barrido:</u> Las células madre mesenquimales se mezclaron con el gel de fibrina y se cultivaron con aprotinina por 3 días. Posterior al cultivo las bolas de gel se observaron en un microscopio electrónico de barrido. <u>- Diseño experimental in vivo:</u> A un grupo de ratas se les inyectó propionato de testosterona de forma continua por 35 días, a otro grupo se le inyectó en la misma dosis aceite de sésamo (grupo control). Las ratas inyectadas con testosterona se convirtieron en el modelo de síndrome de ovario poliquístico y se dividieron en 3 subgrupos: grupo control con ovario poliquístico, grupo con inyección intraovárica de células madre mesenquimales marcadas con luciferasa y un grupo con inyección intraovárica de células + fibrina. Luego de 3 días postoperatorios se tomaron frotis vaginales cada día hasta el día 14. Para investigar el tiempo de supervivencia celular, a ratas de cada grupo se les inyectó una solución con D-luciferina y se detectaron mediante IVIS lumina III. A los 14 días postoperatorios se tomaron muestras de sangre para medir niveles hormonales séricos. Las ratas fueron eutanasiadas y sus ovarios fueron disecados y fijados. <u>- Análisis histológico:</u> Se tiñeron algunas muestras ováricas con tinción hematoxilina/eosina y otras fueron tratadas con anticuerpos anti-Cambiarlo por factor de crecimiento transformador beta 1 de ratón y se observaron en un microscopio confocal. <u>- QRT-PCR:</u> El ARN se aisló en dos mitades, en una se utilizó trizol para su conservación y posterior qPCR en sistema de detección de PCR en tiempo de real con cebadores de factor de crecimiento transformador beta 1 y enzima gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Mientras que la otra mitad se homogeneizó en tampón lisis y se extrajo la proteína sobrenadante para su medición.
<u>Resultado</u>	Se comprobó que la eficiencia de proliferación de las células dentro del gel de fibrina fue mayor que la de las células sembradas en la superficie. La fase de estró no mostró cambios significativos en las ratas intervenidas y ya para la segunda semana postoperatoria el ciclo estral se restableció por completo. Por otra parte, se vio que las células madre solas o con fibrina mejoraron el tamaño y

	peso de los ovarios, además de aumentar la cantidad de granulosa y la reducción de folículos quísticos inmaduros. En cuanto a los niveles hormonales séricos, se comprobó que las células madre fueron capaces de reducir los niveles de testosterona y que las células acompañadas de fibrina los redujeron a niveles casi normales, además de restaurar los niveles de estradiol y progesterona a las 2 semanas postoperatorias. Finalmente, la expresión de Cambiarlo por factor de crecimiento transformador beta 1 se vio restaurada a las 2 semanas en las ratas con tratamiento celular.
Conclusión	Se demostró que las células madre mesenquimales derivadas de cordón umbilical humano encapsuladas en gel de fibrina fueron capaces de ayudar a restaurar la estructura ovárica, la citología, el hiperandrogenismo y la disfunción hormonal en el síndrome de ovario poliquístico.
Fuente bibliográfica	Li, Y., Guo, J., Deng, S., Gao, Z., Liu, Y., & Gu, Q. (2020). Fibrin facilitates mesenchymal stem cells to ameliorate rats with polycystic ovary syndrome. Applied sciences, 10(10), 3598. https://doi.org/10.3390/app10103598

Tabla 33: Andamio descelularizado xenogénico: una nueva plataforma para la regeneración de ovarios.

Título	Andamio descelularizado xenogénico: una nueva plataforma para la regeneración de ovarios.
Órgano	Ovario.
Objetivos	Producir un andamio de ovario descelularizado xenogénico como plataforma, para la regeneración y el trasplante de ovarios.
Biomaterial utilizado	Matriz extracelular descelularizada de ovario bovino.
Especie de experimento	Rata.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	- Recolección de tejido ovárico: Se extrajo tejido de los ovarios de cerdas miniatura Bama, los cuales se lavaron con una solución salina tamponada de fosfato y luego fueron congelados. - Proceso de descelularización: Los tejidos del ovario se trataron con ciclos de congelación y descongelación, después de dichos ciclos, las muestras fueron lavadas en agua desionizada con 1% Triton X-100 y luego fueron tratadas con agua desionizada durante 12 h. Finalmente, a 200 U/mL se aplicó ADNasa I en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a las muestras para minimizar el ADN residual. Las muestras digeridas se esterilizaron con ácido peracético al 3%. - Análisis del contenido de ADN y colágeno: La cuantificación del ADN se realizó tanto en el ovario D como en el ovario N utilizando un kit de extracción de ADN genómico y por medio de un espectrofotómetro. El contenido de colágeno se evaluó en función del contenido de hidroxiprolina (HYP), utilizando un kit de ensayo HYP, todas las muestras de ovario se liofilizaron para obtener su peso seco y luego, se determinó la cantidad de HYP. - Histológico e inmunotinción: la tinción histológica e inmunológica se realizó en las muestras de ovario descelularizado y muestras nativas para observar los componentes residuales que quedan después del proceso. Las muestras se fijaron en solución de formalina al 10% en PBS a temperatura ambiente, deshidratado en etanol y sumergido en cera de parafina. Para el análisis histológico, las secciones se tiñeron con hematoxilina

	y eosina (H&E) para visualizar los componentes celulares y la estructura de la matriz extracelular. El azul Alcian, se utilizó para evaluar cualitativamente el contenido de glucosaminoglicanos (GAG) y tinción inmunohistoquímica se realizó para observar la presencia de colágeno tipos I y III, fibronectina y laminina. - Aislamiento de células de la granulosa de rata: A las ratas Sprague-Dawley hembras inmaduras (de 21 a 24 días de edad), A ratas Sprague-Dawley hembras inmaduras (de 21 a 24 días de edad) les inyectaron 40 UI de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG), luego se recogieron células de la granulosa de ovarios mediante la punción de los folículos con una aguja hipodérmica. - Prueba de citotoxicidad del tejido de ovario descelularizado: Prueba Cell Counting Kit-8 (CCK-8) y un ensayo de migración celular (realizado mediante ensayo de herida por raspado) fueron realizados para evaluar la citotoxicidad y la bioactividad celular de los tejidos del ovario. - Respuesta inmune al ovario D (descelularizado) en vivo: Se realizó un implante subcutáneo en la espalda de 10 ratas macho de muestras de ovario-D y ovario-N, estas muestras implantadas se recogieron en la semana dos y la semana cuatro (cinco ratas en cada vez). Se realizaron evaluaciones histológicas, inmunohistoquímicas y cuantitativas. - Evaluación de la integración de células ováricas con tejido D-ovario. Ex vivo y su secreción de la hormona E2: Bajo laparotomía, se realizó ooforectomía en ratas hembra Sprague-Dawley, a cada una de las cuales se le administró una inyección intraperitoneal de 40 UI de PMSG antes de la cirugía. Después de la extirpación, los ovarios se sumergieron inmediatamente en un medio Eagle modificado por Dulbecco estándar (DMEM/F12). A continuación, los ovarios se lavaron en una solución salina tamponada de fosfato tres veces y se rompieron ligeramente mecánicamente en pequeños fragmentos, estos se sumergieron en una solución de dispersión a 37 °C durante 10 minutos (tripsina al 0,25 % y Na-EDTA en DMEM/F12). Se perforó un pequeño orificio en la muestra descelularizada y en este orificio se implantó el fragmento de ovario. En los días 5, 7 y 9 de cocultivo, las muestras se analizaron mediante tinción inmunohistoquímica, para determinar si las células ováricas se adhirieron, migraron y proliferaron en muestras de Ovario D.
Resultado	El enfoque metodológico resultó eficaz para eliminar componentes celulares y preservar la matriz extracelular del ovario de porcino, además los resultados de la evaluación de la seguridad biológica demostraron que los tejidos del ovario D no son citotóxicos para las células de ovario de rata <i>in vitro</i> y causó sólo una respuesta inmunogénica mínima <i>in vivo</i> . Además, los tejidos del ovario D apoyaron con éxito la penetración de las células de la granulosa de rata <i>ex vivo</i> y mostró una mejora en la secreción de la hormona estradiol (E2).
Conclusión	La evaluación de la seguridad biológica sugirió que el andamio no era citotóxico para las células de ovario de rata y sólo causaba una infección leve en el huésped, en respuesta a la implantación subcutánea xenogénica. Además, los tejidos del ovario D apoyaron con éxito la penetración celular y permitió una mejora en la secreción de la hormona E2.
Fuente bibliográfica	Liu, W., Lin, S., Zhuo, R., Xie, Y., Pan, W., Lin, X., & Shen, F. (2017). Xenogeneic Decellularized Scaffold: a novel platform for ovary regeneration. Tissue Engineering Part C-methods, 23(2), 61-71. https://doi.org/10.1089/ten.tec.2016.0410

Tabla 34: Evaluación de mallas de polipropileno electrohiladas y ultraligeras en el modelo de oveja para cirugía vaginal.

Título	Evaluación de mallas de polipropileno electrohiladas y ultraligeras en el modelo de oveja para cirugía vaginal.
Órgano	Piso Pélvico.
Objetivos	Evaluar los resultados después de la reparación simulada de prolapso vaginal en un modelo de oveja utilizando tres materiales diferentes: malla textil no degradable (Restorelle) de polipropileno

	ultraligera, policarbonato de ureidopirimidinona biodegradable electrohilado y malla de poliuretano no degradable electrohilada en comparación con la reparación de tejido nativo simulada.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Mallas de polipropileno electrohiladas.
<u>Especie de experimento</u>	Ovejas.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Implantes:</u> Se utilizaron tres tipos de implantes, incluyendo polipropileno Restorelle textil ultraligero, policarbonato de ureidopirimidinona biodegradable electrohilado y malla de poliuretano electrohilado. Los implantes midieron 35 × 35 mm, con un espesor de alrededor de 300 µm, un diámetro de fibra de 1 a 2 µm y tamaños de poro de 10 a 20 µm. - <u>Animales, procedimiento quirúrgico y diseño del estudio:</u> Se realizaron procedimientos quirúrgicos en 48 ovejas multíparas divididas en cuatro grupos: tres con implantes de malla y uno con reparación de tejido nativo simulada primaria. Las ovejas se sometieron a cirugía de la pared vaginal posterior y las mallas se fijaron con suturas no degradables. La reparación de tejido nativo simulada primaria implicó plicatura de la estructura fascial sobre el recto. - <u>Recolección de implantes:</u> Las ovejas fueron sacrificadas y se realizaron exámenes macroscópicos para buscar la exposición de suturas polipropileno, acumulación de líquido, infección y sinequias. Se midieron las dimensiones del área del implante para calcular la contracción. Se realizaron mediciones biomecánicas activas y pasivas en muestras de tejido y se procesaron para histología y pruebas de biomecánica. - <u>Pruebas biomecánicas activas:</u> Se realizaron pruebas de contracción en órganos verticales llenos de solución de Krebs a 37 °C. Las muestras se pesaron, se suspendieron en el sistema y se estimularon con concentraciones de KCl crecientes. Se registraron las fuerzas contráctiles y se compararon con la fuerza máxima a 80 mM de KCl. - <u>Pruebas biomecánicas pasivas:</u> Se realizaron pruebas de tensión en los materiales antes de la implantación, tanto en condiciones secas como húmedas. Se empleó la prueba de explosión de bola con un émbolo de 11,5 mm y un tensiómetro Zwick. La rigidez se calcula midiendo la tangente de la curva fuerza-desplazamiento a una fuerza de 30 N. - <u>Estudio morfológico:</u> Se realizaron tinciones con hematoxilina y eosina y tinción tricrómica de Goldner para cuantificar células gigantes de cuerpo extraño, células polimorfonucleares, vasos sanguíneos y tejido conectivo. Se llevó a cabo inmunohistoquímica para detectar neovascularización, red neuronal, miofibroblastos, músculo liso, leucocitos y macrófagos M1 y M2. Se calculó la relación M2/M1. También se evaluó el impacto de los implantes en el grosor de la lámina muscular mediante tinción de α-SMA. - <u>Estadística y ética:</u> Se empleó el software GraphPad Prism versión 7.0 para el análisis estadístico. Se verificó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizaron análisis de varianza bidireccionales para datos normales y la prueba de Tukey para comparaciones múltiples entre grupos. Para datos no normales, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc de Dunn. Los resultados se presentan como media ± desviación estándar o mediana y error estándar de la media.
<u>Resultado</u>	No hubo complicaciones visibles relacionadas con el implante. Ninguno de los implantes comprometió la contractilidad de la pared vaginal y las propiedades biomecánicas pasivas fueron similares a las obtenidas después de la reparación de tejido nativo simulada. La contracción sobre el área de la cirugía fue de alrededor del 35 % para reparación de tejido nativo simulada y todas las reparaciones aumentadas con malla. Todos los materiales se integraron bien con una composición de tejido conectivo, vascularización e inervación similares. La respuesta inflamatoria fue leve con los implantes electrohilados, induciendo más macrófagos, pero con relativamente más macrófagos tipo 2 presentes en una etapa temprana que la malla de polipropileno.

<u>Conclusión</u>	Tres materiales muy diferentes fueron bien tolerados en la vagina de las ovejas. Los hallazgos biomecánicos fueron similares para todas las reparaciones con malla aumentada y reparación de tejido nativo simulada. Las construcciones indujeron perfiles inflamatorios a mediano plazo ligeramente diferentes.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Hympánová, L., Rynkevic, R., Román, S., Da Cunha, M. G. M. C. M., Mazza, E., Zündel, M., Urbánková, I., Gallego, M. R., Vange, J., Callewaert, G., Chapple, C. R., MacNeil, S., & Deprest, J. (2020). Assessment of electrospun and ultra-lightweight polypropylene meshes in the sheep model for vaginal surgery. European Urology Focus, 6(1), 190-198. https://doi.org/10.1016/j.euf.2018.07.024

Tabla 35: El potencial del nuevo andamio basado en quitosano en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos a través de la ingeniería de tejidos.

<u>Título</u>	El potencial del nuevo andamio basado en quitosano en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos a través de la ingeniería de tejidos.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico.
<u>Objetivos</u>	Verificar el potencial de los biomateriales a base de quitosano para la regeneración del prolapso de órganos pélvicos.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Andamio basado en quitosano.
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	<u>Síntesis de andamios de quitosano:</u> Para obtener los armazones de quitosano, se disolvió biopolímero con en una solución acuosa de ácido acético; luego se añadió a cada muestra un agente reticulante (ácido glicólico, ácido aspártico, ácido adípico y ácido levulínico), así como propilenglicol. Luego, las mezclas reaccionantes se colocaron en un reactor de microondas en diversas condiciones de síntesis. Se eliminaron los residuos del agente reticulante con lavado de agua destilada y finalmente se congelaron los hidrogeles a t° diferentes y se liofilizan. Se utilizó ácido reticulante de tipo aspártico glicólico 0,33 - 0,13 gramos en la muestra 1,2,3 y 4 y adípico levulínico 0,50-0,50 en la muestra 5,6,7 y 8. El tiempo fue de 8 minutos en la muestra 1,2,5 y 6 y 10 minutos en la muestra 3,4, 7 y 8. La T° de congelado es de -20°c en la muestra 1,3,5 y 7 y es de -80° en la muestra 2,4,6,8. Se eliminan los residuos de agentes reticulantes mediante lavado con agua destilada. En el último paso, los hidrogeles se congelan a dos temperaturas diferentes y se liofilizan. Para los siguientes experimentos, se utilizaron las muestras número 1, 2, 7 y 8. <u>Análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier:</u> Se realizó utilizando el espectrómetro. Las muestras secas se colocaron en gránulos de KBr y luego se mezclaron la muestra analizada con KBr.

	- Análisis con microscopio electrónico de barrido y microanálisis de rayos X: Para realizar el análisis, las muestras se cortaron en fragmentos y se fijaron sobre la cinta de carbón y se tomaron las microfotografías. El microanálisis de rayos X de los materiales se realizó mediante un método de espectroscopía de energía dispersiva utilizando un microscopio y equipado con un detector EDS. - Porosidad y densidad: Se determinaron mediante desplazamiento de isopropanol. Los biomateriales se colocaron en el volumen de isopropanol, se midió el cambio de volumen del aerogel impregnado con alcohol. Luego se eliminó el armazón de quitosano estudiado del isopropanol. En el último paso, se midió la diferencia en el volumen de isopropanol. Se calculó la densidad y la porosidad mediante ecuaciones. - Propiedades de hinchamiento y estudio de incubación: Se pesaron muestras y se colocaron en agua destilada, se dejaron durante 24 horas y se volvieron a pesar; se calculó su grado de hinchamiento (%). La estabilidad de los andamios en un fluido corporal simulado se determinó mediante mediciones de cambios de pH durante 96 horas. Para las mediciones de pH se utilizó electrodo. - Estudio de propiedades mecánicas: Los andamios se cortan y luego se colocan entre soportes de cartón. El espesor promedio de los andamios se determinó aplicando el método SEM. A continuación, los nanocompuestos fueron acondicionados en una solución saturada de nitrato de sodio, y se estiraron los andamios. Parámetros como la resistencia a la tracción, el alargamiento de rotura y el módulo elástico se calcularon con los datos de fuerza-deformación obtenidos usando ecuaciones. - Estudio de biodegradación (in vitro): Se pesaron aerogeles de quitosano que se sumergieron en una solución de SBF con una concentración de lisozima para imitar las condiciones del cuerpo humano. Las muestras fueron tomadas, lavadas con agua destilada, secadas y pesadas a intervalos de tiempo fijos. El porcentaje de degradación y biodegradación se calculó mediante ecuación. - Estudio antioxidante: Se investigaron mediante un método DPPH estándar, se preparó una solución de DPPH en metanol. Para determinar la capacidad de eliminación de radicales libres, se colocaron 0,10 g de cada muestra en 5 ml de solución de DPPH y se dejaron en oscuridad con agitación. Luego, se midió la absorbancia de cada solución. El porcentaje de radicales libres eliminados se calculó utilizando ecuación. - Estudio de cultivo celular: El cultivo se realizó utilizando medio libre de suero Keratinocitos-SFM con gentamicina. - Estudio de citotoxicidad: Los armazones de quitosano se dividieron en pequeños fragmentos y se acondicionaron en tampón de fosfato suplementado con solución de penicilina/estreptomicina. Luego, los andamios se acondicionaron en PBS puro para eliminar el exceso de antibióticos. Finalmente, se colocaron los soportes en placas y se añadió medio de cultivo. Se sembraron células VK2/E6E7 en cada armazón/placa.
Resultado	Preparamos con éxito los nuevos derivados de quitosano reticulados en condiciones asistidas por microondas. El proceso de entrecruzamiento fue confirmado por el método FT-IR. Los biomateriales exhibieron excelentes capacidades de porosidad e hinchamiento. También tenían una buena actividad antioxidante. Sin embargo, sorprendentemente parecían ser citotóxicos tanto para las células epiteliales vaginales (VK2/E6E7) como para las células de carcinoma colorrectal (HCT116). Dichos resultados sugieren que la combinación de agentes de reticulación debe ajustarse mejor y debe mejorarse el proceso de purificación.
Conclusión	En un estudio futuro, nos centraremos en la preparación de andamios entrecruzados con los ácidos bifuncionales de menor acidez, que no afectarían negativamente a las células cultivadas. En general, se puede concluir que la elección del agente reticulante correcto fue crucial para el mantenimiento de la biocompatibilidad del quitosano y su efecto sobre la estructura química fue superior a la morfología porosa o la capacidad de hinchamiento. El desarrollo de los andamios a base de quitosano aplicables en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos debe estar precedido por una cuidadosa caracterización del agente modificador.
Fuente bibliográfica	Radwan-Pragłowska, J., Stangel-Wójcikiewicz, K., Piątkowski, M., Janus, Ł., Matýsek, D., Majka, M., & Amrom, D. (2020). The Potential of Novel Chitosan-Based Scaffolds in Pelvic Organ Prolapse (POP) Treatment through Tissue Engineering. <i>Molecules</i> , 25(18), 4280. https://doi.org/10.3390/molecules25184280

Tabla 36: Síntesis y caracterización asistida por microondas de nuevos materiales a base de quitosano para el tratamiento de prolapso de órganos pélvicos.

<u>Título</u>	Síntesis y caracterización asistida por microondas de nuevos materiales a base de quitosano para el tratamiento de prolapso de órganos pélvicos.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico.
<u>Objetivos</u>	Describir la posibilidad de utilizar quitosano, un polisacárido derivado de quitina, como un biomaterial potencial que puede usarse en la formación de andamios.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Armazón de quitosano.
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	<u>: Síntesis de andamios de quitosano:</u> Para obtener los armazones de quitosano, se disolvió biopolímero en una solución acuosa de ácido acético; luego se añadió a cada muestra un agente reticulante (ácido glicólico, ácido aspártico, ácido adípico y ácido levulínico), así como propilenglicol. Luego, las mezclas reaccionantes se colocaron en un reactor de microondas en diversas condiciones de síntesis. Se eliminaron los residuos del agente reticulante con lavado de agua destilada y finalmente se congelaron los hidrogeles a temperaturas diferentes y se liofilizan. Se utilizó ácido reticulante aspártico glicólico 0,33 - 0,13 gramos en la muestra 1,2,3 y 4 y ácido adípico levulinico 0,50-0,50 en la muestra 5,6,7 y 8; y los tiempos fueron de 8 minutos en la muestra 1,2,5 y 6 y 10 minutos en la muestra 3,4, 7 y 8; la T° congelado fue de -20°c en la muestra 1,3,5 y 7 y -80° en la muestra 2,4,6,8. Se eliminan los residuos de agentes reticulantes mediante lavado con agua destilada. En el último paso, los hidrogeles se congelan a dos temperaturas diferentes y se liofilizan. Para los siguientes experimentos, se utilizaron las muestras número 1, 2, 7 y 8. <u>: Análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier:</u> Se realizó utilizando el espectrómetro. Las muestras secas se colocaron en gránulos de KBr y luego se mezclaron la muestra analizada con KBr. <u>: Análisis con microscopio electrónico de barrido y microanálisis de rayos X:</u> Para realizar el análisis, las muestras se cortaron en fragmentos y se fijaron sobre la cinta de carbón y se tomaron las microfotografías El microanálisis de rayos X de los materiales se realizó mediante un método de espectroscopía de energía dispersiva utilizando un microscopio y equipado con un detector EDS. <u>: Porosidad y densidad:</u> Se determinaron mediante desplazamiento de isopropanol. Los biomateriales se colocaron en el volumen de isopropanol, se midió el cambio de volumen del aerogel impregnado con alcohol. Luego se eliminó el armazón de quitosano estudiado del isopropanol. En el último paso, se midió la diferencia en el volumen de isopropanol. Se calculó la densidad y la porosidad mediante ecuaciones. <u>: Propiedades de hinchamiento y estudio de incubación:</u> Se pesaron muestras y se colocaron en agua destilada, se dejaron durante 24 horas y se volvieron a pesar; se calculó su grado de hinchamiento (%). La estabilidad de los andamios en un fluido corporal simulado se determinó mediante mediciones de cambios de pH durante 96 horas. Para las mediciones de pH se utilizó electrodo. <u>: Estudio de propiedades mecánicas:</u> Los andamios se cortan y luego se colocan entre soportes de cartón. El espesor promedio de los andamios se determinó aplicando el método SEM. A continuación, los nanocompuestos fueron acondicionados en una solución saturada de nitrato de sodio, y se estiraron los andamios. Parámetros como la resistencia a la tracción, el alargamiento de

	rotura y el módulo elástico se calcularon con los datos de fuerza-deformación obtenidos usando ecuaciones. - Estudio de biodegradación (<i>in vitro</i>): Se pesaron aerogeles de quitosano que se sumergieron en una solución de SBF con una concentración de lisozima para imitar las condiciones del cuerpo humano. Las muestras fueron tomadas, lavadas con agua destilada, secadas y pesadas a intervalos de tiempo fijos. El porcentaje de degradación y biodegradación se calculó mediante ecuación. - Estudio antioxidante: Se investigaron mediante un método DPPH estándar, se preparó una solución de DPPH en metanol. Para determinar la capacidad de eliminación de radicales libres, se colocaron 0,10 g de cada muestra en 5 ml de solución de DPPH y se dejaron en oscuridad con agitación. Luego, se midió la absorbancia de cada solución. El porcentaje de radicales libres eliminados se calculó utilizando ecuación. - Estudio de cultivo celular: El cultivo se realizó utilizando medio libre de suero Keratinocitos-SFM con gentamicina. - Estudio de citotoxicidad: Los armazones de quitosano se dividieron en pequeños fragmentos y se acondicionaron en tampón de fosfato suplementado con solución de penicilina/estreptomicina. Luego, los andamios se acondicionaron en tampón de fosfato puro para eliminar el exceso de antibióticos. Finalmente, se colocaron los soportes en placas y se añadió medio de cultivo. Se sembraron células VK2/E6E7 en cada armazón/placa.
Resultado	Solo cuatro muestras mantuvieron la estructura 3D después de la liofilización (muestras número 1, 2, 7 y 8). En relación con la morfología de andamios, un hallazgo importante es que el método de preparación del andamio (temperatura de congelación) puede afectar el tamaño y la forma de los poros. Las muestras congeladas a -20°C tienen diámetros de poro mayores que las muestras congeladas a -80°C. Y las muestras preparadas a mayor temperatura tienen una forma más delicada. A 80°C hay más nucleación de cristalización que a -20°C, por lo tanto, se forman más cristales y son de menor tamaño. Los estudios de porosidad y densidad confirman que los biomateriales obtenidos se caracterizan por una porosidad muy alta y una densidad muy baja. También se puede observar que la densidad y la porosidad están fuertemente correlacionadas con la temperatura de congelación. Estudio de capacidad de hinchamiento y estabilidad en donde en general, la absorción de las soluciones acuáticas está determinada por la presencia de grupos funcionales hidrófilos, así como por la porosidad. En cuanto a las propiedades mecánicas, se puede observar que la estrategia de reticulación propuesta dio como resultado materiales más duraderos. El mayor aumento se observa en la muestra 8 (casi dos veces más duradero que el quitosano puro). Este fenómeno puede explicarse por la introducción de cadenas entre las moléculas de quitosano manteniendo los enlaces de hidrógeno. Durante la incubación con fluido corporal simulado estéril, no se notó una disminución significativa del pH y se obtuvo la misma observación durante la biodegradación en condiciones similares a las humanas. En relación con las propiedades antioxidantes se demostró la capacidad del andamio preparado para neutralizar los radicales libres. Evidentemente, tanto el quitosano puro como el andamio preparado tienen una muy buena actividad antioxidante. Sin embargo, se puede observar que la capacidad de eliminación de radicales libres es mayor en las muestras 7 y 8. En el estudio de citotoxicidad se puede observar que las muestras 1 y 2 eran muy frágiles. Al dividirse en fragmentos más pequeños, las células se desmoronan y forman "pellets" que flotan en el medio. Por otro lado, las muestras 7 y 8 se mantuvieron más compactas, "pegajosas" y resilientes. Los resultados sugieren que las muestras 7 y 8 serán más adecuadas para pruebas en el modelo animal grande, ya que probablemente seguirán siendo su estructura primaria después de suturarlas en la pelvis. Presenta cultivo celular VK2/E6E7, muestran una morfología celular estándar. Los resultados del cultivo celular en los andamios preparados. Se puede observar que ninguno de los biomateriales resultó tóxico para las células. Se puede observar que las células VK2/E6E7 cubren el fondo de las placas alrededor de los andamios y no difieren morfológicamente de las células que normalmente crecen. Se puede observar que en las muestras 1 y 2 se observa un mayor número de células viables. Las células que crecieron en el andamio pudieron conservar su morfología, aunque están presentes algunas células con bordes irregulares y citoplasma granular.

<u>Conclusión</u>	Los datos sugieren que los andamios a base de quitosano tienen un gran potencial en aplicaciones futuras en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos femeninos. Estudios futuros pueden investigar <i>in vivo</i> aplicaciones de los andamios y la capacidad de los tejidos circundantes para regenerarse y crecer. La próxima etapa de la investigación se centrará en la evaluación de la biocompatibilidad de los biomateriales utilizando un modelo animal grande (oveja) que tiene un gran parecido en la anatomía de la pelvis.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Stangel-Wojcikiewicz, K., Piatkowski, M., Radwan-Pragłowska, J., Janus, L., Matysek, D., Majka, M., Kot, M., Amrom, D., & Wrobel, A. (2019). Microwave-assisted synthesis and characterization of novel chitosan-based biomaterials for pelvic organ prolapse treatment. <i>Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society</i> , 70(3), 10.26402/jpp.2019.3.15. https://doi.org/10.26402/jpp.2019.3.15

Tabla 37: Desarrollo de una malla protésica a base de celulosa para el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos: En vivo evaluación a largo plazo en un modelo de vagina de oveja.

<u>Título</u>	Desarrollo de una malla protésica a base de celulosa para el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos: En vivo evaluación a largo plazo en un modelo de vagina de oveja.
<u>Órgano</u>	Piso pélvico.
<u>Objetivos</u>	Evaluar por primera vez la posibilidad de una malla a base de celulosa como candidata adecuada para el Tratamiento del prolapso de órganos pélvicos.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Malla protésica a base de celulosa.
<u>Especie de experimento</u>	Oveja
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- Preparación de mallas a base de celulosa y a base de celulosa/colágeno: Se lavaron gránulos de base de celulosa con una solución de NaOH para eliminar residuos y luego se esterilizaron. Para la preparación de a base de celulosa/colágeno, se realizó una solución de colágeno en ácido acético. La película a base de celulosa secada en horno se sumergió en solución de colágeno y se secó. Las películas de a base de celulosa/colágeno se reticularon en una solución de glutaraldehído. Todas las mallas en base de celulosa y en base de celulosa/colágeno se lavaron con agua ultrapura varias veces. Todas las mallas a base de celulosa se analizaron para determinar el contenido de endotoxinas. Todas las muestras se secaron. Sistema de corte por láser se usó para perforar las películas para que tuvieran una forma y una disposición de poros específicas, la malla se diseñó para tener porosidad. - Caracterización fisicoquímica de las mallas: Se adquirió información sobre las especies químicas de la superficie y se determinó la topografía de la superficie de cada muestra. Se realizaron en una máquina pruebas de tracción, de resistencia de la sutura, para medir la rigidez. Se utilizaron como referencia clínica y comparación, mallas vaginales disponibles comercialmente, TiLOOP extra ligeras y ligeras. Se analizaron al menos 7 muestras para cada grupo. - Estudio celular <i>in vitro</i>: Se cultivaron células madre mesenquimáticas uterinas (generación primaria de células de músculo liso uterino de conejo) en medio que contenía suero bovino fetal y solución antibiótica-antimicótica. Para evaluar la unión celular a las membranas, las membranas se

	colocaron en placas de cultivo de tejidos. Se realizaron tres ensayos diferentes con muestras por triplicado. La viabilidad celular se midió mediante el ensayo Cell Counting. Para la tinción de colágeno I y III, Para visualizar el colágeno, y también el núcleo. La expresión génica se determinó mediante PCR. - Estudio <i>in vivo</i>: Se utilizó el modelo de conejo para evaluar la inflamación aguda. Las enfermedades inflamatorias crónicas fueron evaluadas mediante implantación transvaginal en oveja durante 90 días. - Implantación subcutánea en conejo: Para estudios de implantación a corto plazo, se utilizaron seis conejos blancos machos (tres para cada grupo de malla). Las mallas a base de celulosa se cortaron en trozos y se esterilizaron. Las mallas se insertaron en bolsas subcutáneas del abdomen de los conejos. Todos los conejos fueron sacrificados una semana después de la cirugía de implantación. - Modelo de implantación vaginal a largo plazo: Se utilizaron en este estudio 9 ovejas adultas una como control, 4 para cada grupo de malla. Antes de la operación, se extirparon los ovarios de las ovejas. Todas las mallas utilizadas para el estudio fueron esterilizadas y cortadas. La malla se implantó en la línea media debajo del tejido de la pared posterior de la vagina. Se utilizaron analgésicos y antiinfecciosos. La eutanasia se realizó a las ovejas y se extrajeron los tejidos vaginales con mallas implantadas para análisis histológico. - Análisis histológico e inmunohistoquímico: Todas las muestras de los modelos de conejo y oveja se fijaron, se tiñeron y se observaron utilizando un microscopio. Se utilizaron anticuerpos anti-CD45, anti-CD86 y anti-CD206. Se utilizó tinción para diferenciar entre el colágeno tipo I y tipo III, se examinaron mediante microscopía se observaron bajo luz de polarización cruzada, las fibras de colágeno tipo I aparecieron de color amarillo y las fibras de colágeno tipo III aparecieron de color verde. - Imágenes y análisis estadístico: La biocompatibilidad de las mallas se evaluó, para el análisis de imágenes se utilizaron microfotografías del área implantada de cada animal para evaluar.
Resultado	En base a las propiedades superficiales y resistencia a la tracción de las mallas se observó que la deposición de colágeno dio lugar a una estructura mucho más densa y tosca por lo tanto tuvo la mayor resistencia a la rotura entre las mallas. La resistencia de la malla a base de celulosa/colágeno fue significativamente menor que la de la malla a base de celulosa. Las resistencias de sutura de las mallas base de celulosa/colágeno y base de celulosa fueron ligeramente superiores a las de la malla polipropileno extra ligera clínica, pero inferiores a las de la malla polipropileno ligera. La malla de polipropileno extra ligera mostró menor flexibilidad. Por el contrario, las mallas basadas en base de celulosa exhibieron un valor de flexibilidad casi tres veces mayor que el extra ligero. La evaluación celular <i>in vitro</i> de las mallas demostró que la viabilidad celular determinada por CCK-8 fue mucho mayor en la malla Base de celulosa recubierta de colágeno que en la malla base de celulosa desnuda. Sin embargo, la viabilidad de las células en la malla base de celulosa/colágeno disminuyó, mientras que en la malla base de celulosa la malla aumentó. Hubo algunas diferencias en las morfologías del colágeno I y III, en el colágeno I aparecen como fibras más delgadas y el colágeno III es más escamoso. Los núcleos celulares están resaltados en azul y se encontraron grupos de células en las mallas base de celulosa y base de celulosa/colágeno. Los niveles de expresión de colágeno tipos I y III fueron significativamente mayores en la malla base de celulosa/colágeno que en la malla base de celulosa. Implantación subcutánea en modelo de conejo evaluó que las mallas se insertaron en bolsas subcutáneas en el abdomen de los conejos, no había signos de inflamación, como enrojecimiento, fiebre, edema o exudados, alrededor de las mallas a base de celulosa implantadas. Y las mallas estaban encapsuladas por tejido conectivo blanco delgado. En estos experimentos no se observan neutrófilos ni otros glóbulos blancos móviles ni células muertas fragmentadas. La implantación transvaginal a largo plazo demostró que ninguna oveja mostró un comportamiento doloroso y ninguno de los animales mostró inflamación o infección visible. La malla quedó encapsulada y totalmente integrada en el tejido huésped, y ninguna de las muestras presentó erosión, exposición o contracción. Al tocar las muestras directamente con la mano, los tejidos vaginales recolectados eran suaves y lisos sin protuberancias. Es razonable especular que no hubo pliegues, deformaciones o pliegues graves de la malla en el cuerpo. Según el examen histológico, sólo hubo una reacción inflamatoria relativamente grave debido a la malla base de celulosa recubierta de colágeno. Demuestra que la malla base de celulosa mostró una respuesta del huésped relativamente menor que la malla base de celulosa/colágeno. Mostró que la malla base de celulosa estaba completamente integrada en el tejido huésped. La deformación de la malla se debe a la

	compresión de pequeños pliegues del tejido vaginal y al movimiento activo de la oveja. La malla base de celulosa mostró que aproximadamente dos tercios de la malla estaba rodeada por fibras musculares rojas en lugar de colágeno azul, demostrando una excelente biocompatibilidad. Una muestra de base de celulosa/colágeno no se integró tan bien en el tejido circundante y se observaron más signos de células exudativas e inflamatorias. Los tipos de colágeno I y III, que fueron resaltados específicamente, presentaron colores rojo y verde, el colágeno tipo I fue más predominante que el colágeno tipo III en las muestras de base de celulosa. Además, en las mallas base de celulosa/colágeno se observó un aumento en el número de fibras verdes (tipo III) en comparación con las fibras rojas (tipo I). Se utilizó inmunohistoquímica para evaluar la reacción inflamatoria crónica. CD45 se utiliza para detectar el grado de infiltración inflamatoria en el tejido. No se observaron células inflamatorias alrededor de la malla base de celulosa. En la muestra base de celulosa/colágeno se observaron células CD45 positivas, con exudación. El número de células CD86 y CD206 positivas en la muestra de base de celulosa/colágeno fue significativamente mayor que en las muestras de base de celulosa.
<u>Conclusión</u>	El presente estudio desarrolló una nueva malla basada en base de celulosa como malla alternativa clínica viable para el tratamiento de prolapso de órganos pélvicos. Presentó propiedades mecánicas superiores a las mallas sintéticas clínicas, en términos de resistencia a la rotura y resistencia de la sutura. Mostró rigidez deseable, adaptabilidad y durabilidad a largo plazo <i>en vivo</i> biocompatibilidad en el ambiente vaginal de la oveja, favoreciendo <i>en vivo</i> integración tisular. Tanto las mallas base de celulosa como la base de celulosa/colágeno desencadenan una respuesta inflamatoria aguda muy baja. La malla base de celulosa/colágeno mostró ventajas en la adhesión y actividad celular. <i>in vitro</i> , pero severo <i>en vivo</i> respuesta durante la implantación a largo plazo. Por tanto, la malla base de celulosa puede ser un candidato prometedor para el tratamiento clínico del prolapso de órganos pélvicos.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Lai, C., Zhang, S., Chen, X., Sheng, L., Qi, T., & Yan, L. (2021). Development of a cellulose -based prosthetic mesh for pelvic organ prolapse treatment: in vivo long-term evaluation in an EWE vagina model. Materials Today Bio, 12, 100172. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100172

Tabla 38: Geles GelMA atrapados en nanopartículas de azul de Prusia cargados con células madre mesenquimales como posibles biomateriales para la reparación de tejido del suelo pélvico.

<u>Título</u>	Geles GelMA atrapados en nanopartículas de azul de Prusia cargados con células madre mesenquimales como posibles biomateriales para la reparación de tejido del suelo pélvico.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico.
<u>Objetivos</u>	- Sintetizar complejos recelularizados con células madre mesenquimales de nanopartículas de azul de Prusia (PBNP) e hidrogel con anhídrido metacrilato (GelMA). - Estudiar su viabilidad celular <i>in vitro</i> después de pretratamientos térmicos con irradiación láser NIR. - Evaluar la reparación del tejido en modelos <i>in vivo</i>, 14 días posteriores a la implantación de los complejos.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Nanopartículas de azul de Prusia incorporados en hidrogel GelMA (gelatina-metacrilato).
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimento controlado.

Descripción del experimento	- Creación del hidrogel PBNP@GelMA: Se sintetizó gel de metacrilato (GelMA), el que se disolvió en una solución foto iniciadora y se dejó en una concentración al 10% a la que se le incorporó una solución de nanopartículas de azul de Prusia (PBNP) al 10% para sintetizar PBNP@GelMA, posteriormente se sometió a irradiación ultravioleta para entrecruzarse por completo. El gel se sometió a ensayos mecánicos para probar el esfuerzo de estiramiento y compresión, además de una evaluación del efecto fototérmico. - Encapsulación de células madre mesenquimales en el gel PBNP@GelMA: Se emplearon células madre mesenquimales de ratón y se utilizó radiación ultravioleta para encapsularlas en el hidrogel. - Evaluación del ciclo celular y viabilidad: Las células madre mesenquimales se dividieron en 3 grupos; un grupo de control, un grupo de células encapsuladas en PBNP@GelMA y otro grupo de células encapsuladas en PBNP@GelMA irradiadas con láser NIR (infrarrojo) de 808 nm por 10 minutos. Para el análisis celular se tiñeron las células con tinción PI/ARNasa y se detectaron en un citómetro de flujo. La viabilidad celular se evaluó mediante tinción, las células vivas se marcaron con fluorescencia verde y las células muertas con rojo. Se tomaron imágenes mediante microscopía de fluorescencia. Además de la evaluación visual, se utilizó un kit de recuento de células-8 (CCK-8), se evaluaron las células con el kit a las 24, 48 y 72 horas y Western Blot para medir los niveles de expresión del gen HSP70. - Experimentación in vivo: Se les extrajeron los oblicuos externos e internos a 40 ratas para construir un modelo de defecto de la pared abdominal de 1 cm x1 cm, donde se inyectó el gel PBNP@GelMA pretratado con láser y células madre mesenquimales encapsuladas en él. Se hizo una evaluación histológica de la reparación tisular <i>in vivo</i> a los 14 días de la implantación del complejo.
Resultado	PBNP@GelMA demostró propiedades mecánicas satisfactorias y un rendimiento de conversión fototérmica eficiente. Análisis del tratamiento de choque térmico sugirió un aumento de proliferación de células en los modelos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> , por lo que el tratamiento de choque térmico puede promover el comportamiento celular de las células madre mesenquimales. El complejo PBNP@GelMA demostró buena histocompatibilidad y una promoción de la regeneración tisular mayor en el caso del grupo complejo con láser NIR.
Conclusión	Los resultados <i>in vitro</i> revelaron que el tratamiento con choque térmico mediado por PBNP@GelMA promovió la viabilidad de las células madre mesenquimales. Mientras que la investigación <i>in vivo</i> sugiere que la activación por calor de las células madre mesenquimales promueve la reparación de tejidos al promover la regeneración muscular. El enfoque es adecuado para la aplicación clínica en reparación de tejido pélvico.
Fuente bibliográfica	Wen, J., Zhao, Z., Fang, F., Xiao, J., Wang, L., Cheng, J., Wu, J., & Miao, Y. (2023). Prussian Blue Nanoparticle-Entrapped GELMA gels laden with mesenchymal stem cells as prospective biomaterials for pelvic floor tissue repair. International Journal of Molecular Sciences, 24(3), 2704. https://doi.org/10.3390/ijms24032704

Tabla 39: Recubrimiento de hidrogel cargado de ácido tánico confiere a la malla de polipropileno capacidad hemostática y antiinflamatoria para facilitar la reparación del suelo pélvico.

Título	Recubrimiento de hidrogel cargado de ácido tánico confiere a la malla de polipropileno capacidad hemostática y antiinflamatoria para facilitar la reparación del suelo pélvico.
Órgano	Piso Pélvico.

<u>Objetivos</u>	Formar un recubrimiento antiinflamatorio y hemostático para la malla de polipropileno con hidrogel GelMA cargado con ácido tánico (TA), que promueva la reparación y regeneración del tejido del suelo pélvico.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Ácido tánico, GelMA (gelatina de metacrilato), fenil-2,4,6-trimetilbenzoilfosfinato de litio (LAP) y tripsina.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Estudio experimental controlado.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Fabricación del recubrimiento de hidrogel TA@GelMA:</u> Se sintetizó un hidrogel de anhídrido metacrilato (GelMA) con ácido tánico (TA@GelMA) y fue utilizado como recubrimiento de las mallas de polipropileno (MPP). Adicionalmente se recubrieron algunas mallas sólo con GelMA para formar el grupo de control. - <u>Caracterización de complejos de malla de hidrogel:</u> Se hicieron pruebas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para caracterizar los complejos de hidrogel+malla y comparar sus propiedades: se evaluó morfología a través de microscopía electrónica de barrido, ángulo de contacto, retención de agua y relación de hinchazón, ensayo de degradación en incubación con tripsina, pruebas de resistencia a la tracción y resistencia al estallido de bola, ensayos de cito compatibilidad y proliferación celular. - <u>Cirugía:</u> Se utilizó la pared abdominal de ratas para el modelo de prolapso de órganos pélvicos. Se injertaron las mallas con TA@GelMA para posteriormente eutanasiar a las ratas en 4 grupos distintos: a las 1, 2, 3 y 8 semanas y realizar análisis histológicos. - <u>Evaluación histológica:</u> Se realizaron evaluaciones macroscópicas, múltiples tinciones con hematoxilina y eosina, tricrómico de Masson, tinción de sirio e inmunohistoquímica con anticuerpos primarios y secundarios. - <u>Experimentos bioquímicos:</u> Las muestras se trituraron y sometieron a análisis Western Blot y qPCR en tiempo real. Finalmente, los restos de muestra se sometieron a tinción por inmunofluorescencia, citometría de flujo, ensayo de migración Transwell y ensayo de formación de tubos en matriz.
<u>Resultado</u>	El complejo MPP+TA@GelMA mostró buena hidrofiliidad, propiedades mecánicas para la presión pélvica, un aumento en la unión y proliferación celular y un menor riesgo de hematoma posquirúrgico por su buena capacidad hemostática. Además, los estudios sugieren que gracias a su rápida degradación hay menor inflamación crónica y una mejora en la integración entre los tejidos y la malla de polipropileno. En cuanto a la cito compatibilidad, el complejo demostró una buena compatibilidad lo que promueve la reparación y remodelación de los tejidos y disminuye la respuesta a cuerpo extraño que es característica de las mallas de polipropileno. El artículo sugiere realizar más estudios regeneración del colágeno, la neoangiogénesis y la regulación de los macrófagos M2.
<u>Conclusión</u>	El método de autorreticulación directo sin indicadores químicos de las MPP+TA@GelMA completó la modificación de la malla y construyó con éxito un nuevo complejo de malla de hidrogel para la reparación del prolapso de órganos pélvicos. Por tanto, los autores creen que el método mostrará un gran potencial en la investigación y el tratamiento de la reparación del tejido del piso pélvico.
<u>Fuente bibliográfica</u>	Wu, C., Zhou, Z., You, X., Guo, Y., Chen, P., Li, H., & Tong, X. (2022). Tannic acid-loaded hydrogel coating endues polypropylene mesh with hemostatic and anti-inflammatory capacity for facilitating pelvic floor repair. Regenerative Biomaterials, 9. https://doi.org/10.1093/rb/rbac074

Tabla 40: Elaboración de mallas de PDO e investigación de sus parámetros de fabricación.

<u>Título</u>	Elaboración de mallas de PDO e investigación de sus parámetros de fabricación.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico.
<u>Objetivos</u>	Comparar y evaluar las propiedades mecánicas y estructurales de mallas elaboradas a partir de 3 monofilamentos de polidioxanona (PDO) de diferente diámetro. Comparar a nivel integral las propiedades mecánicas y estructurales de las mallas de polidioxanona y 5 mallas comerciales de polipropileno.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Monofilamentos de polidioxanona.
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental comparativo.
<u>Descripción del experimento</u>	Experimento <i>in vitro</i>, se utilizaron 3 monofilamentos de polidioxanona de diferentes diámetros en varias muestras de malla con diferentes formas y tamaños de poro. - <u>Evaluación de la tracción y rigidez:</u> Antes de unir los monofilamentos para las mallas se evaluó por separado las propiedades de tracción y rigidez de los monofilamentos en un probador de tracción y por sensor respectivamente. - <u>Elaboración de las mallas de polidioxanona:</u> Para las muestras se usaron 3 tipos de monofilamento de polidioxanona: 0,16 mm, 0,23 mm y 0,29 mm. Se trenzaron los monofilamentos a mano utilizando un modelo de placa de armadura de 15 cm por 15 cm, cruzadas en ángulo recto y romboide y ranuras de 5 mm x 5 mm y 10 mm x 10 mm para cada forma de poro y cada tipo de monofilamento. El resultado fueron 12 muestras de malla con las distintas combinaciones de tipo de poro, tamaño y forma de poro. Evaluación de las propiedades mecánicas, donde cada muestra fue medida 3 veces y se promedió para el valor final: - <u>Densidad superficial:</u> Se pesó cada muestra en una balanza analítica electrónica y se calculó mediante una ecuación. - <u>Espesor:</u> Las muestras se midieron en un probador de espesor de tela, donde la presión se fijó en 1 KPa y duró 30 segundos. - <u>Rigidez a la flexión:</u> Las muestras se cortaron en forma de rectángulo de 25 mm x 120 mm y se probó con un probador de rigidez de telas. La rigidez se calculó con una ecuación. - <u>Resistencia a la tracción:</u> Las muestras se cortaron en forma de rectángulo de 25 mm x 120 mm y se midió con un probador de resistencia electrónico. - <u>Fuerza a la ruptura:</u> Las muestras se cortaron en forma de círculo de 60 mm x 60 mm y se midieron con el probador de fuerza electrónico. La distancia inicial entre los mandriles fue de 300 mm y la velocidad de descenso fue de 100 mm/min. - <u>Fuerza de extracción a la sutura:</u> Las muestras se cortaron en tamaño de 30 mm x 30 mm y se midieron en el probador de resistencia multifunción textil. Se pasó la sutura a aproximadamente 3 mm del borde y se estiró hasta la rotura a 100 mm/min. - <u>Evaluación de la propiedad de degradación <i>in vitro</i> de la polidioxanona:</u> Como sólo se quería comprobar la degradación del tipo de material se utilizaron únicamente 3 muestras de monofilamento de diferente diámetro. Para la prueba las muestras se sumergieron en una solución de cultivo y se incubaron a 37°C durante 16 semanas, con recambio de solución cada semana y toma de muestras cada 2. La pérdida de peso fue evaluada mediante una ecuación. Posteriormente, se hizo la comparación entre las mallas creadas con polidioxanona y las preexistentes en el mercado.

Resultado	Se compararon las propiedades encontradas en las mallas de polidioxanona con 5 mallas de polipropileno disponibles en el mercado. En comparación de peso, la malla de polidioxanona es por lejos más ligera que las mallas de polipropileno disponibles, sin embargo, el grosor de la malla era mayor debido a que los diámetros del monofilamento de polidioxanona eran mayores. En cuanto a rigidez, no se pudo comparar debido a que los métodos fueron diferentes y no hubo consenso tampoco en los resultados de los estudios de polipropileno marca Marlex. La resistencia a la rotura es uno de los puntos más deficientes de las mallas de polidioxanona debido a que por ser ultraligeras son muy poco resistentes. Aun así, los autores recalcan que tener alta resistencia no es un requisito para la malla de piso pélvico.
Conclusión	La investigación dio como resultado que el monofilamento de polidioxanona de diámetro 0,23mm con poro cuadrado de 10mmx10mm podría ser un buen candidato como material de reconstrucción de piso pélvico, aunque necesita más estudios posteriores.
Fuente bibliográfica	Lü, Y., Chen, S., Li, N., Guo, C., Hu, B., Chen, Y., & Zhou, S. (2019). Preparation of PDO mesh and research on its fabrication parameters. Industria Textila. https://doi.org/10.35530/it.070.03.1544

Tabla 41: Materiales de malla aumentados con células madre: un estudio *in vitro* e *in vivo*.

Título	Materiales de malla aumentados con células madre: un estudio <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> .
Órgano	Piso Pélvico.
Objetivos	- Evaluar los materiales <i>in vitro</i> utilizados actualmente en la cirugía del suelo pélvico y seleccionar los mejores soportes para el crecimiento de las células madre mesenquimales. - Comparar, en un modelo de rata, la respuesta inflamatoria, las características del colágeno y las propiedades mecánicas de los materiales de implante que están sembrados o no con células madre mesenquimales de rata homólogas.
Biomaterial utilizado	- Submucosa del intestino delgado porcino no reticulada marca “Surgisis ES”. - Matriz de colágeno dérmico acelular porcino reticulado marca “Pelvicol”. - Malla sintética de polipropileno no biodegradable marca “Gynemesh PS”. - Malla híbrida de polipropileno recubierta de colágeno marca “Pelvitex”.
Especie de experimento	Rata.
Tipo de estudio	Estudio experimental controlado.
Descripción del experimento	- Preparación celular y siembra en andamios: Se tomaron muestras de 4 biomateriales usados comercialmente para el prolapso de órganos pélvicos (Surgisis, Pelvicol, Gynemesh y Pelvitex), se cortaron muestras cuadradas de 4 mm x 4 mm, se colocaron en placas de cultivo celular y se cultivaron con células madre mesenquimales de ratas, además de un cultivo control que no tenía células implantadas. - Tinción y análisis microscópico: Las muestras de Surgisis y Pelvicol se fijaron y tiñeron con tinción hematoxilina/eosina mientras que a las muestras de Gynemesh y Pelvitex se les agregó al medio de cultivo un colorante fluorescente antes de fijarlas y se analizaron con microscopía fluorescente confocal. Se le realizaron análisis histológicos a cada biomaterial a los 7, 14 y 21 días de cultivo y la tasa de proliferación se clasificó como alta, intermedia y baja.

	- Cirugía experimental: Se implantaron sólo implantes Pelvitex o Surgisis de 20 mm x 20 mm con o sin cultivo de células madre mesenquimales en la pared muscular del abdomen de 24 ratas; se observaron durante el posoperatorio y se tomaron muestras de sangre antes de eutanasiar a los 7 y 90 días. Posterior a la eutanasia se recopilaron muestras de los explantes y las muestras de control para ver las propiedades mecánicas e histológicas de las mallas. - Propiedades mecánicas: Se utilizó un analizador mecánico dinámico para los ensayos mecánicos de tracción de las muestras hasta la separación de la malla de la pared abdominal. En caso de reabsorción total o parcial de las mallas se traccionó el tejido fibrótico sobre el lugar de implantación de la malla. - Histología: Se fijaron las muestras postoperatorias y se tiñeron con tinción de hematoxilina/eosina y tinción tricrómica de Masson y se realizó la evaluación microscópica de la organización celular y el colágeno de las muestras.
Resultado	Los resultados del crecimiento celular <i>in vitro</i> arrojaron que sólo hubo proliferación celular en los andamios de Surgisis y Pelvitex, por tanto, estos dos andamios fueron los seleccionados para las pruebas <i>in vivo</i>. En los resultados en ratas, 3 de los grupos presentaron seroma alrededor del implante al séptimo día y a los 90 días se vio en general, una reabsorción parcial o completa de la malla. En cuanto a la histología, en general no hubo diferencias significativas entre los explantes y se observó un aumento en la neovascularización en los animales que recibieron células madre mesenquimales de ratas. Por último, en los ensayos de tracción mecánica pareciera que las mallas casi no tienen diferencias, pareciera ser que Surgisis con células madre mesenquimales es la más resistente en una comparación de todos los resultados.
Conclusión	Algunos materiales de implantes utilizados en cirugías del piso pélvico pueden utilizarse eficazmente como soporte para el crecimiento de las células madre mesenquimales. Estas células desempeñan un papel importante en las mallas <i>in vivo</i> al disminuir la respuesta antiinflamatoria sistémica que producen los materiales sintéticos y mejorando las características del colágeno alrededor de los injertos biológicos.
Fuente bibliográfica	Spelzini, F., Manodoro, S., Frigerio, M., Nicolini, G., Maggioni, D., Donzelli, E., Altomare, L., Farè, S., Veneziano, F., Avezza, F., Tredici, G., & Milani, R. (2014). Stem cell Augmented mesh materials: An <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> study. <i>International Urogynecology Journal</i>, 26(5), 675-683. https://doi.org/10.1007/s00192-014-2570-z

Tabla 42: Un método de recubrimiento de fibrina de mallas de polipropileno permite la adhesión de células estromales mesenquimales derivadas de la sangre menstrual: una nueva estrategia de administración para terapias basadas en células madre.

Título	Un método de recubrimiento de fibrina de mallas de polipropileno permite la adhesión de células estromales mesenquimales derivadas de la sangre menstrual: una nueva estrategia de administración para terapias basadas en células madre.
Órgano	Piso Pélvico.
Objetivos	Mejorar el método de recubrimiento de fibrina para garantizar una mejor cobertura de la superficie de la malla de polipropileno y una adhesión satisfactoria de las células estromales.
Biomaterial utilizado	Mallas de polipropileno recubiertas de fibrina.

Especie de experimento	No aplica.
Tipo de estudio	Experimental controlado.
Descripción del experimento	- Optimización del recubrimiento de fibrina: El sellador de fibrina tiene dos componentes principales: fibrinógeno y trombina. Este sellador se utilizará para el recubrimiento de una malla de polipropileno. Para determinar la cantidad de fibrinógeno y trombina óptimos para el sellador se prepararon soluciones con diferentes cantidades de trombina y fibrinógeno, además de determinar cuál sería la mejor solución para la coagulación de estos componentes con 3 diferentes soluciones. - Tratamiento con plasma de la malla de polipropileno: Se realizó en un sistema de tratamiento de plasma de descarga de barrera dieléctrica atmosférico equipado con un control de proceso automatizado. Se dejaron mallas sin tratamiento con plasma a modo de control. - Recubrimiento de fibrina de la malla de polipropileno: Se prepararon soluciones con fibrinógeno de 1 - 5 mg/ml y 2,5 - 5,5 UI/ml de trombina, en tampón de fosfato o tampón 2-morfolin-4-ácido iletanosulfónico (MES) respectivamente. Se realizaron recubrimientos monocapa y bicapa. Posterior al recubrimiento se realizaron análisis de la morfología y distribución de la red de recubrimiento, además de una prueba de tracción uniaxial para comprobar las propiedades mecánicas. - Siembra celular y ensayo CCK-8: Se utilizaron células madre mesenquimales derivadas de sangre menstrual como células para cultivo dentro de las mallas. Se hicieron muestras con o sin tratamiento con plasma, con o sin recubrimiento de fibrina, monocapa y bicapa, y en distintas concentraciones de fibrina. Se realizaron ensayos CCK-8 a los 1,3 y 7 días de incubación. - Tinción y microscopía de fluorescencia: Para verificar la adhesión de las células madre mesenquimales se utilizó microscopía de fluorescencia. Para ello antes de la siembra de células se le agregó a las soluciones tinción negro Sudán al 1%, así se reduce la autofluorescencia y la refracción de la luz, mientras que a las células madre mesenquimales se les agregó solución Hoechst. Las imágenes se tomaron con un sistema de imágenes de 2 células. - Análisis fenotípico y de expresión genética: Para el análisis fenotípico, las células se separaron de las mallas y se tiñeron con anticuerpos monoclonales humanos marcados con fluorescencia para marcadores inmunorelacionados, además, se utilizaron anticuerpos de isotipo coincidente como controles negativos. Se realizó una citometría de flujo con un sistema de citometría de flujo. En cuanto al análisis genético, se aisló el ARN total de las células separadas con un kit de aislamiento. Se utilizó un espectrofotómetro para evaluar la calidad y concentración del ARN, ensayos de expresión genética para genes inmunorelacionados específicos y ampliación de ADN (qPCR). - Ensayo inmunomodulador: En las mallas sembradas con células y recubrimiento bicapa de mayor concentración de fibrinógeno y trombina se cultivaron linfocitos de sangre periférica, estimulados previamente con un kit de activación/expansión de células T, por 4 días. Posterior a la incubación se recogieron los linfocitos y fueron analizados mediante citometría de flujo con cuerpos monoclonales marcados con fluorescencia contra CD4 y CD8.
Resultado	Se observó que para cubrir uniformemente las mallas de polipropileno era necesario que los recubrimientos de fibrina fueran en bicapa o bien en monocapa con las concentraciones más altas de fibrinógeno y trombina. En cuanto a la resistencia mecánica de las mallas, se vio una menor resistencia en la malla con recubrimiento monocapa. En los estudios de viabilidad celular, la viabilidad de las células madre mesenquimales en mallas recubiertas con bicapa fue significativamente mayor, además de encontrar las células de manera uniforme por toda la superficie de la malla. El análisis fenotípico confirmó que el recubrimiento de fibrina no afectó el perfil de las células cuando se sembró en una malla recubierta de fibrina bicapa, ni causaron reacciones inflamatorias en ellas. Por último, se evidenció que en todas las mallas tratadas hubo una menor proliferación de células T siendo menor en la malla recubierta con fibrina y cultivo celular.
Conclusión	El estudio demostró que los recubrimientos de fibrina multicapa de malla de polipropileno, realizados con diluciones de 5 mg/ml de fibrinógeno y 5,5 UI/ml de trombina en el tampón de fosfato, permiten la adhesión y viabilidad de las células madre derivadas de sangre menstrual. Sin embargo, al ser un estudio <i>in vitro</i> requiere de estudios posteriores para seguir evaluando la viabilidad de las mallas.

<u>Fuente bibliográfica</u>	Marinaro, F., Silva, J. M., Barros, A. A., Aroso, I. M. A., Gómez-Blanco, J. C., Jardín, I., López, J. J., Pulido, M., De Pedro, M. Á., Reis, R. L., Sánchez-Margallo, F. M., Casado, J. G., & López, E. (2021). A fibrin coating method of polypropylene meshes enables the adhesion of menstrual Blood-Derived mesenchymal stromal cells: a new delivery strategy for stem Cell-Based therapies. International Journal of Molecular Sciences, 22(24), 13385. https://doi.org/10.3390/ijms222413385
------------------------------------	--

Tabla 43: Producción de biomateriales liberadores de ácido ascórbico para la reparación de suelo pélvico.

<u>Título</u>	Producción de biomateriales liberadores de ácido ascórbico para la reparación de suelo pélvico.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico.
<u>Objetivos</u>	Producir andamios de ácido poliláctico (PLA) liberador de ácido ascórbico y evaluar sus efectos sobre la producción de matriz extracelular y la resistencia de los materiales.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Andamios con ácido ascórbico y ascorbato-2-fosfato.
<u>Especie de experimento</u>	No aplica.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Preparación de emulsiones:</u> El polímero de ácido poliláctico se disolvió al 10% en diclorometano y se agregaron 50 microlitros de un detergente (Span80), por otro lado, el ácido ascórbico y ascorbato 2-fosfato se disolvieron en agua destilada y dio un volumen total de 500 microlitros. Posteriormente, la solución disuelta de ambos ácidos se mezcló con la solución de ácido poliláctico + Span80, llegando a concentraciones finales de 0,0001; 0,001 y 0,01 gramos de ácido ascórbico y ácido ascorbato 2 fosfato en cada solución obtenida. - <u>Condiciones de electrohilado:</u> Las emulsiones se electrohicaron con alto voltaje, luego las esferas que resultaron de este procedimiento se posaron en láminas de aluminio y puestas en un colector giratorio para finalmente producir los andamios. - <u>Perfil de lanzamiento de ácido ascórbico y ascorbato 2-fosfato:</u> Se realizaron mediciones con un espectrofotómetro UV de 8 concentraciones de los ácidos, preparados en un medio con 4 mL de H₂O y un tampón de fosfato salino, dichas concentraciones se mantuvieron en una incubadora a 37°C, además para realizar la medición real de ácido ascórbico y ácido ascorbato 2-fosfato encapsulada dentro de las nano fibras, se disolvió un trozo de 20mg del andamio. - <u>Medición absorción de agua:</u> Los andamios se incubaron en 10 ml de tampón fosfato salino, y luego se evaluó la absorción de agua, expresada como el porcentaje de aumento en el peso de cada andamio. - <u>Condiciones de cultivo de fibroblastos dérmicos humanos:</u> Se aislaron y expandieron fibroblastos dérmicos humanos (HDF) de la piel en un medio de cultivo, que contenía medio de Eagle modificado por Dulbecco suplementado con suero fetal de ternera, glutamina, penicilina y estreptomicina. Para experimentos 2D, se sembraron un total de 50.000 HDF por pocillo y en los experimentos 3D se sembraron un total de 500.000 HDF durante 14 días. - <u>Evaluación de la viabilidad celular:</u> La actividad metabólica celular se midió mediante un ensayo de resazurina, luego de que se retiraran todos los medios de cultivo y que fueran lavados con un tampón de fosfato salino.

	- Tinción con rojo sirio para colágeno total: Las muestras fijadas se lavaron con un tampón fosfato salino y se agregaron dos mililitros de tinción sirius red a cada muestra de fibroblastos cultivados en monocapa y en andamios. - Microscopia de barrido: Muestras se lavaron con un tampón de fosfato salino y se fijaron en una solución tamponada de formaldehído al 10%, luego se añadió un tampón cacodilato y se incubaron durante 20 min., además se añadió al tampón glutaraldehído durante 30 min. Finalmente se cuantificó el diámetro y tamaño de los poros de los andamios. - Evaluación de propiedades mecánicas: Se evaluaron las propiedades mecánicas de andamios húmedos y secos, específicamente se midió el espesor y luego se fijaron en un tensiómetro.
Resultado	Los principales hallazgos fueron que era posible introducir ácido ascórbico (AA) y ácido ascorbato - 2-fosfato (A2P) en armazones biodegradables sin comprometer propiedades mecánicas y medir la liberación exitosa tanto de AA como de A2P. También los andamios que contenían AA como A2P fueron significativamente más hidrófilos y fuertes tanto en estado seco como húmedo. Los fibroblastos produjeron más colágeno en estructuras que contenían AA o A2P en comparación con las células cultivadas en estructuras de control.
Conclusión	Este estudio mostró que tanto AA como A2P liberados en andamios de PLA electrohilados aumentaron la producción de colágeno de los fibroblastos en grados similares, pero los andamios de AA parecían ser más hidrófilos y fuertes en comparación con los andamios que contenían A2P.
Fuente bibliográfica	Mangir, N., Bullock, A. J., Román, S., Osman, N. I., Chapple, C. R., & MacNeil, S. (2016). Production of ascorbic acid releasing biomaterials for pelvic floor repair. Acta Biomaterialia, 29, 188-197. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.019

Tabla 44: Malla de nanofibras electrohiladas con factor de crecimiento de tejido conectivo y células madre mesenquimales para la reparación del suelo pélvico: estudio a largo plazo.

Título	Malla de nanofibras electrohiladas con factor de crecimiento de tejido conectivo y células madre mesenquimales para la reparación del suelo pélvico: estudio a largo plazo.
Órgano	Piso Pélvico.
Objetivos	Demostrar cómo las mallas de nanofibras electro hiladas con CTGF y MSC brindan suficiente soporte a largo plazo sin complicaciones relacionadas con la malla.
Biomaterial utilizado	Policaprolactona (PLC), factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), PEG-fibrinógeno (PF).
Especie de experimento	Rata.
Tipo de estudio	Experimental.
Descripción del experimento	A ocho ratas hembra se les implantó una malla de policaprolactona electrohilada recubierta de factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), PEG-fibrinógeno (PF) y adhesión de células madre mesenquimales. El resultado a largo plazo fue evaluado comparándolo con un "grupo de control histórico" de un estudio anterior donde ratas hembra más jóvenes tuvieron el mismo tipo de malla durante 24 semanas (grupo de 24 semanas). - Composición de la malla: Los andamios se construyeron según los trabajos anteriores. Las mallas de fibra se fabricaron mediante electrohilado de una solución de policaprolactona al 12 %. Se cultivaron y expandieron MSC de rata recién compradas siguiendo los protocolos de la empresa y

	finalmente se sembraron en construcciones recubiertas de hidrogel policaprolactona y PEG - fibrinógeno. Las células se cultivaron adicionalmente en construcciones durante 3 días antes de la implantación del animal. - Procedimiento quirúrgico: Las ratas fueron anestesiadas. Se realizó una incisión en la línea media abdominal. Se colocó una malla de 2,5 a 4,0 cm directamente encima, cubriendo el defecto y 0,5 cm del tejido circundante, y se fijó con suturas. Se administró analgesia subcutánea y profilaxis antibiótica a los 3 días del postoperatorio. - Eutanasia y muestreo de tejidos: Las ratas fueron examinadas tres veces a la semana para detectar hernias, hematomas y bienestar general. Fueron sacrificados entre las semanas 50 y 60 después de la implantación de la malla. Las mallas y 1 cm de tejido adyacente se sacaron y se dividieron en cuatro secciones para su análisis. - Pruebas biomecánicas: Se realizaron pruebas de tracción biomecánica para evaluar la rigidez y resistencia del tejido. La razón para realizar una prueba de tracción uniaxial es que imita el modo de falla observado durante la hernia. - Expresión genética y contenido de proteínas: La expresión de los genes de colágeno I y III y la cantidad de proteína se midieron mediante qPCR en tiempo real y transferencia Western, respectivamente. - Histopatología: Las muestras de tejido para evaluación histológica se fijaron y se incluyeron en parafina. Los bloques de parafina se cortaron en secciones y se tiñeron dos secciones de cada rata, una con hematoxilina y eosina (HE) y otra con tricrómico de Masson (MT). Se evaluaron mediante microscopía el número de células gigantes de cuerpo extraño (FBGC), el grado de vascularización, la cantidad de colágeno y los restos de malla.
Resultado	Se comparó el estudio de 24 semanas con el de 53 semanas. Ninguna rata desarrolló hernia durante el periodo de estudio, pero sí desarrollaron tumores. No se observaron diferencias significativas en la expresión de ARNm de colágeno I y colágeno III o en la cantidad de proteína de colágeno I. Sin embargo, el grupo de 53 semanas exhibió una cantidad significativamente menor de proteína de colágeno III. Se observó una diferencia significativa en la respuesta de células gigantes de cuerpo extraño entre los dos grupos. Se vio una cantidad reducida de células gigantes de cuerpo extraño en el grupo de 53 semanas. A pesar de una gran diferencia entre los grupos en la vascularización media, el resultado fue insignificante debido a una vascularización muy alta en dos de las muestras del grupo de 53 semanas. Sólo en el grupo de 24 semanas encontró formación de abscesos. En todas las muestras fue posible identificar fibras de malla dentro del tejido denso en células, pero el área densa en células parecía más estrecha y el área central pobre en células parecía más grande en el grupo de 53 semanas. Además, las mallas parecían más disueltas y desgarradas en el grupo de 53 semanas. Las pruebas biomecánicas mostraron que la resistencia máxima a la tracción (UTS) en el grupo de 53 semanas no fue significativamente diferente del grupo de 24 semanas.
Conclusión	Este estudio proporciona nuevos conocimientos sobre la futura reparación del prolapso de órganos pélvicos en mujeres posmenopáusicas al mostrar cómo las mallas de policaprolactona electrohiladas recubiertas de factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) y PEG-fibrinógeno (PF) con células madre exhiben suficiente soporte, biocompatibilidad y no presentan complicaciones relacionadas con la malla a largo plazo. Como el grupo de estudio estaba formado por ratas mayores y más pesadas que las ratas de estudios anteriores. Esto imita a las mujeres posmenopáusicas de edad avanzada, el grupo principal que se somete a una reparación del suelo pélvico, lo que hace que este estudio sea muy relevante para futuras investigaciones sobre la reparación del suelo pélvico. Antes de su introducción en la práctica clínica humana, es fundamental realizar más estudios de intervención a largo plazo en un modelo animal grande para que se asemeje más a un modelo humano.
Fuente bibliográfica	Laursen, S. H., Hansen, S. G., Taskin, M. B., Chen, M., Wogensen, L., Nygaard, J. V., & Axelsen, S. M. (2023). Electrospun nanofiber mesh with connective tissue growth factor and mesenchymal stem cells for pelvic floor repair: Long-term study. Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials, 111(2), 392–401. https://doi.org/10.1002/jbm.b.35158

Tabla 45: Andamio electrohilado compuesto que contiene matriz amniótica descelularizada para el prolapso de órganos pélvicos.

<u>Título</u>	Andamio electrohilado compuesto que contiene matriz amniótica descelularizada para el prolapso de órganos pélvicos.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico
<u>Objetivos</u>	Desarrollar andamios compuestos electrohilados utilizando matriz amniótica descelularizada, polímeros biocompatibles y polímeros como tratamiento para prolapso de órganos pélvicos
<u>Biomaterial utilizado</u>	Polímeros biocompatibles como poli (ε-caprolactona) y Polímeros de poli (lactida-co-glicolida)
<u>Especie de experimento</u>	No aplica
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Se preparó HAM descelularizado en polvo:</u> Se realizó la descelularización de la membrana amniótica (HAM), generando dHAM (membrana amniótica post descelularización), que se transformó en polvo soluble. Posteriormente, se llevaron a cabo procesos de fabricación de andamios electrohilados, incluyendo la preparación de soluciones para electrohilado y la obtención de fibras aleatorias mediante este proceso. - <u>Caracterización fisicoquímica de andamios electrohilados:</u> Se procedió a la caracterización fisicoquímica de los andamios electrohilados, seguido por el aislamiento, cultivo e identificación de células madre mesenquimales (MSC) primarias del cordón umbilical. La evaluación de respuestas celulares fue parte integral del estudio. - <u>Preparación de andamios electrohilados:</u> La etapa final implicó la preparación de andamios electrohilados utilizando diversas soluciones de electrohilado, que contenían diferentes polímeros y membrana amniótica descelularizada disueltos en Hexafluoro-2-propanol. Este proceso se llevó a cabo mediante un dispositivo de electrohilado, y la morfología de la superficie de los andamios resultantes fue examinada.
<u>Resultado</u>	El proceso de electrohilado de los polímeros y membrana amniótica descelularizada tuvo éxito, lo que es una innovación en este campo. Los polímeros proporcionan propiedades físicas y químicas adaptables al tejido del suelo pélvico, mientras que la membrana amniótica descelularizada aporta propiedades biológicas deseables. Se observó que los andamios con tasas de degradación más rápidas aún mantenían la estabilidad necesaria para soportar los tejidos dañados del suelo pélvico. Se espera que el rendimiento mecánico mejore con la adición de células madre. La tecnología de electrohilado utilizada permite la personalización de los materiales según las necesidades del paciente ajustando diversos parámetros del proceso.
<u>Conclusión</u>	Se propone que esta tecnología podría ofrecer una solución prometedora para el prolapso de órganos pélvicos, especialmente considerando la prevalencia de esta afección en mujeres después del parto
<u>Fuente bibliográfica</u>	Yang, D., Fang, Z., Kang, R., & Liu, K. (2021.). Composite electrospun scaffold containing decellularized amniotic matrix for pelvic organ prolapse. Materials & Design, 210, 110106. https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.110106

Tabla 46: Efectos de los recubrimientos de quitosano sobre mallas de polipropileno para implantación en un modelo de pared abdominal de rata.

<u>Título</u>	Efectos de los recubrimientos de quitosano sobre mallas de polipropileno para implantación en un modelo de pared abdominal de rata.
<u>Órgano</u>	Piso Pélvico.
<u>Objetivos</u>	Evaluar la respuesta <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de un recubrimiento de quitosano sobre malla de polipropileno (Ch-PPM) en comparación con mallas disponibles comercialmente.
<u>Biomaterial utilizado</u>	Polipropileno (Ch-PPM) /quitosano.
<u>Especie de experimento</u>	Rata.
<u>Tipo de estudio</u>	Experimental.
<u>Descripción del experimento</u>	- <u>Preparación de mallas recubiertas de quitosano y caracterización:</u> Un quitosano de alto peso molecular, el polipropileno estéril se cortó en cuadrados de 1,2 cm y se colocó en un frasco estéril que contiene solución de quitosano filtrada. La malla fue retirada de la solución, se colocó en un tubo de centrifuga y se dejó en nitrógeno líquido. La malla se esterilizó bajo luz ultravioleta. Se utilizó un microscopio electrónico de barrido para confirmar el recubrimiento exitoso. El polipropileno también se sometió al mismo procedimiento de recubrimiento menos la adición de quitosano para garantizar que los efectos del procedimiento no alteren la estructura del material de polipropileno. - <u>Visión general de estudio <i>in vitro</i>:</u> Se sacrificaron ratones neonatales y adultos para el aislamiento de mioblastos y fibroblastos dérmicos, respectivamente. El aislamiento de tipos de células se modificó a partir de un protocolo preexistente. Las células se pasaron de forma independiente a cuatro generaciones, se tiñeron con un marcador lipófilo a largo plazo y luego se sembraron 1:1 sobre uno de los cuatro artículos de prueba diferentes: polipropileno, polipropileno recubierto de quitosano al 0,3 % (Ch-PPM), polipropileno recubierto de quitosano al 0,5 %. polipropileno y 0,7% polipropileno recubierto de quitosano. - <u><i>In vitro</i> inmunocitoquímica y cocultivo:</u> El aislamiento de mioblastos y fibroblastos de ratones y los medios de cultivo celular apropiados se adaptaron del protocolo preexistente. En el Paso 4, se sembraron por separado una muestra de mioblastos y una muestra de fibroblastos en portaobjetos de vidrio y se prepararon para inmunocitoquímica. - <u><i>In vitro</i> caracterización de la unión celular en la malla:</u> Se utilizó un microscopio Olympus IX-71 para determinar la relación entre el área y el número de mioblastos y fibroblastos a las 12, 24 y 48 h. Cada malla se analizó en cuanto a número de células y área de células. - <u>Visión general de estudio <i>in vivo</i>:</u> Se asignaron aleatoriamente ratas Wistar macho a nueve grupos de seis cada uno. Cada rata fue sometida a una escisión de la musculatura de la pared abdominal ventrolateral a cada lado de la línea alba. Los defectos se repararon con uno de los tres artículos de prueba: polipropileno recubierto de quitosano, polipropileno recubierto de colágeno (Col-PPM) y polipropileno solo. Los animales se dividieron aleatoriamente en tres grupos después de la cirugía para una supervivencia de 2, 4 y 12 semanas. Los tejidos recolectados se dividieron uniformemente para medir la fuerza muscular activa mediante una prueba contráctil, análisis histológico y fenotipado de macrófagos. - <u><i>In vivo</i> procedimiento quirúrgico:</u> Cada rata se colocó anestesia por inhalación. Se realizó una incisión en la piel del abdomen en la línea media ventral. Se extirpó una sección de 1,2 cm de las capas oblicuas abdominales externa e interna de la pared abdominal ventrolateral. El defecto se reparó con una pieza del mismo tamaño del artículo de prueba elegido al azar antes de la cirugía. Se colocaron suturas en cada una de las cuatro esquinas.

	- Pruebas de generación de fuerza <i>in situ</i>: Se incluyeron pruebas de generación de fuerza para evaluar el crecimiento interno del tejido muscular funcional en el neotejido. - Histología: El segundo grupo, después de sacrificar a las ratas, las construcciones se diseccionaron y dividieron en dos conjuntos, para tinción con hematoxilina y eosina (H&E) y fenotipado de macrófagos y expresión de miogenina. El primer conjunto se fijó por inmersión en formalina tamponada neutra al 10%, embebido en metacrilato de glicol, y teñido con H&E. Un patólogo veterinario certificado, que desconocía los grupos de tratamiento, examinó las construcciones de malla teñidas con H&E mediante microscopía óptica. La gravedad de la respuesta inflamatoria se evaluó mediante un esquema de clasificación bien establecido.
Resultado	En el <i>in vitro</i> los resultados mostraron que el recubrimiento de quitosano en polipropileno promueve los mioblastos e inhibe la unión de los fibroblastos a la malla. En el <i>in vivo</i> se realizó un estudio para demostrar aún más que el recubrimiento de quitosano disminuye las respuestas inflamatorias, promueve el crecimiento interno del tejido muscular y reduce la fibrosis. En el <i>in vitro</i> los resultados que muestran que el recubrimiento de quitosano sobre polipropileno promueve la unión temprana de mioblastos sobre la unión de fibroblastos están respaldados aún más por el estudio <i>in vivo</i> ya que se observa que polipropileno recubierto de quitosano genera una fuerza tetánica significativamente mayor, lo que indica el crecimiento interno de fibras musculares. El recubrimiento de quitosano se asocia con la restauración del músculo esquelético funcional con características histomorfológicas que se asemejan al músculo nativo y una respuesta fenotípica temprana de los macrófagos que previamente se ha demostrado que conduce a resultados más funcionales.
Conclusión	Estos resultados, junto con la evaluación de la expresión de miogenina y los resultados de las pruebas de generación de fuerza, favorecen a polipropileno recubierto de quitosano sobre las mallas disponibles comercialmente.
Fuente bibliográfica	Udpa, N., Iyer, S. R., Rajoria, R., Breyer, K. E., Valentine, H., Singh, B., McDonough, S. P., Brown, B. N., Bonassar, L. J., & Gao, Y. (2013). Effects of chitosan coatings on polypropylene mesh for implantation in a rat abdominal wall model. <i>Tissue Engineering. Part A</i>, 19(23–24), 2713–2723. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0739

DISCUSIÓN

La evaluación de los artículos elegidos en esta investigación, se enfocó en abordar los objetivos previamente establecidos, los cuales se centran en identificar el avance en la reparación o reemplazo de los órganos ginecológicos como el útero, los ovarios y el piso pélvico a través de la aplicación de la bioingeniería de tejidos. Esto con la finalidad de describir los avances existentes en el área y comprobar si existen opciones viables que permitan reemplazar o, en su defecto, apoyar el actual tratamiento para las diferentes patologías ginecológicas; el trasplante de órganos.

En cuanto a los estudios referidos a útero, existen distintos tipos de experimentos que se pueden realizar en base a técnicas de bioingeniería de tejidos, uno de ellos es la descelularización de tejido uterino. Masoomikarimi et al. (2023) realizaron un experimento en base a 4 protocolos de descelularización que luego se implantaron en ratas. Todos promovieron la proliferación celular, pero se concluyó que el útero descelularizado con el protocolo 4 basado en dodecilsulfato de sodio (SDS), tampón de fosfato salino (PBS) y tritón x-100 fue el método más favorable para la eliminación completa de las células, logrando preservar la matriz extracelular y las propiedades mecánicas del útero, lo que podría ser una base para estudios futuros.

En el experimento de Sehic et al. (2022) utilizaron andamios de tejido uterino descelularizado por medio de dimetilsulfóxido y tritón X-100. El experimento se dividió en dos grupos, donde el primer grupo recibió un andamio de tejido uterino recelularizado con células madre mesenquimales y el segundo grupo, un andamio de tejido uterino sin células añadidas. Los resultados dejaron en evidencia que no se observan diferencias a nivel macroscópico entre los injertos, mientras que, a nivel microscópico, se apreció un mejor resultado en los injertos recelularizados. Por su parte, Li Y et al. (2022) realizaron un experimento basado en un armazón cervical uterino humano combinado con células madre derivadas del tejido adiposo, que fue trasplantado a ratas con daño cervical parcial, las cuales fueron posteriormente

preñadas para ver la evolución de dichas gestaciones. La evaluación de la fertilidad en armazón recelularizado, arrojó que todas las ratas estaban preñadas con un número similar de embriones al normal. Lo más relevante fue que una rata dio a luz crías sanas, lo que demostró que el cuello uterino reparado puede soportar la expansión durante la preñez. Estos resultados implican que el armazón recelularizado podría reparar el cuello uterino y promover la recuperación de la fertilidad. No obstante, al comparar los resultados de los experimentos, se puede inferir que al descelularizar andamios con métodos diferentes y al incluir células madre en estos tejidos creados, se obtienen resultados favorables logrando reparar los daños uterinos.

En el estudio de Young et al. (2013) utilizaron tejido miometrial humano y de rata descelularizado con tripsina. Se añadieron células humanas (miocitos) en el andamio de rata, las cuales penetraron en el tejido proporcionando una prueba de principio para la creación de injertos de xenoneomiometrio (andamio creado con componentes de especies distintas), ya que, demostró una integridad estructural y excelente viabilidad celular. Los miocitos humanos también expresaron contracciones coordinadas y proporcionaron un modelo novedoso para el estudio de la contractilidad miometrial. Daryabari et al. (2019) utilizaron andamios uterinos de ovino descelularizados por medio de 3 protocolos. Después de la evaluación y caracterización de los tejidos acelulares, las muestras del protocolo III basado en dodecilsulfato de sodio (SDS) en distintas concentraciones y tampón de fosfato salino (PBS) demostraron una mayor preservación del contenido de matriz extracelular, biocompatibilidad, viabilidad celular y una red vascular más favorable, es por esto por lo que se determinó que era el método de descelularización óptimo. En ambos experimentos se logra observar que el uso de xenoinjertos es viable para la regeneración uterina.

De igual forma, Hellström et al. (2016) en su experimento utilizaron triton-X100 tamponado, sulfóxido de dimetilo y desoxicolato de sodio, para crear parches de tejido uterino descelularizado, que luego fueron cultivados con células uterinas primarias y células madre mesenquimales. Estos parches fueron trasplantados a ratas con defectos y finalmente, según una PCR (reacción en cadena de la

polimerasa) cuantitativa e inmunohistoquímica, se pudo evidenciar que existía un tejido similar al útero en todos los parches trasplantados. En relación con la preñez de las ratas, los grupos tratados con triton-X100 tuvieron un desarrollo fetal normal, en cambio el grupo tratado con desoxicolato de sodio mostró una reducción en el número de fetos y en el desarrollo fetal. Yoshimasa et al. (2023) en el desarrollo de su experimento tomaron un grupo control que fue tratado solo con un tubo de silicona (T) y otro grupo experimental tratado con DES (andamio endometrial descelularizado) cargado con un tubo de silicona (T+D). Luego de 1 mes los tejidos tratados fueron observados macroscópicamente y todos los grupos tenían un aspecto normal. La tinción de hematoxilina y eosina mostró la preservación de estructuras similares en ambos grupos. Por otro lado, el área del estroma y el número de células fueron mayores en el cuerno uterino tratado con tubo de silicona, lo que llevó a una regeneración exitosa de los componentes del estroma del endometrio circunferencialmente. Sin embargo, el endometrio carecía de epitelio luminal y glandular. En conclusión, descubrieron que el andamio endometrial descelularizado podía mejorar la regeneración circunferencial del estroma endometrial, pero tenía poca o ninguna capacidad para inducir la epitelización dentro del mes postrasplante y a su vez podría ser beneficioso para prevenir adherencias en la regeneración del endometrio.

Por otra parte, se realizaron experimentos utilizando hidrogeles. Como es el caso de Guan et al. (2022), que señalan en su estudio que usaron gusanos de seda transgénicos para obtener factor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGF1) y sericina. La cantidad de factor de crecimiento de fibroblastos 1 se cuantificó y se crearon hidrogeles con factor de crecimiento de fibroblastos 1 y sin él. En conclusión, el uso del hidrogel constituido por factor de crecimiento de fibroblastos 1 más sericina (FGF1-SS) mejoró la estructura y función del útero en ratas con lesiones, además de inhibir la fibrosis endometrial, volviéndolo útil para el tratamiento posoperatorio de adherencias intrauterinas que demostró efectos terapéuticos a largo plazo. A su vez, el experimento de Li F et al. (2023) demostraron que el hidrogel autocurativo P10G20, probado en un modelo de rata con adherencias intrauterinas (AIU) inducidas, tenía una estabilidad superior en comparación con otras mezclas,

además de propiedades antioxidantes al eliminar radicales libres ligados al estrés oxidativo, lo que sugiere su potencial para reducir la fibrosis y la formación de adherencias al comienzo de la cicatrización de heridas. También este hidrogel evitó el adelgazamiento del útero y mantuvo el tejido en un estado similar al nativo, evidenciando su eficacia terapéutica y biocompatibilidad *in vivo*. Estos experimentos evidenciaron que los hidrogeles ayudan a la formación de nuevos tejidos y a su vez proporcionan una estructura y funcionalidad óptima en los andamios creados.

Chen et al. (2022) utilizaron hidrogeles en base a gel de metacrilato (GelMA) y sericina metacrilada (SerMA), estos hidrogeles demostraron buenas propiedades de engrosamiento, resistencia y descomposición. En estudios celulares *in vitro*, los hidrogeles fueron altamente biocompatibles y eficientes para encapsular células madre mesenquimales de cordón umbilical humano (HUMSC). En experimentos *in vivo* en un modelo de ratones con daño endometrial, revelaron que este hidrogel con células madre mesenquimales de cordón umbilical humano aumentó el grosor del endometrio, redujo la fibrosis y mejoró la receptividad del tejido endometrial a la transferencia de embriones. Se concluyó que el uso de este hidrogel con células madre puede ser una forma prometedora de mejorar la regeneración del endometrio y aumentar las posibilidades de preñez. Zhang X et al. (2022) realizaron un experimento utilizando hidrogeles de gel de metacrilato (GelMA), hidrogeles de N-acrilóil glicinamida (NAGA) e hidrogeles anti adhesivos de poli(etilenglicol) metacrilato (PEGMA). Se fabricaron microagujas de punta de flecha mediante la preparación de soluciones de GelMA y NAGA y se cargaron con un factor de crecimiento transformante beta (β -FGF) para promover la reparación del tejido. Se probó en experimentos *in vitro* por medio de adhesión a la superficie de células humanas de adenocarcinoma endometrial e *in vivo* en ratas con adherencias intrauterinas, resultando en una buena adherencia de los tejidos a las microagujas de punta y flecha logrando ser un método efectivo para el tratamiento y prevención de adherencias intrauterinas. Además, fue de gran utilidad en la reparación del endometrio dañado.

Por su parte, Hanuman et al. (2021) fabricaron nanofibras de Policaprolactona (PCL) por medio de distintas soluciones, luego estas fueron

sumergidas en un medio con amina y otro con maltosa. A su vez se cultivaron fibroblastos uterinos humanos para posteriormente ser añadidos en los andamios creados. Con este estudio se concluyó que las células de fibroblastos uterinos humanos (HUF) proliferaron significativamente en los armazones de policaprolactona modificados con maltosa, y también exhibieron una morfología apropiada que indica que estas fibras modificadas son muy adecuadas para el crecimiento de las células uterinas. Por otro lado, Song et al. (2015) cultivaron células madre embrionarias de ratón y aislaron células del estroma endometrial humano. Se dejaron caer las células en una membrana de colágeno extraída de piel bovina y se colocaron en 4 grupos de ratas asignadas aleatoriamente: colágeno, células/colágeno, regeneración natural, y “sham operated” (cirugía que omite el paso que es terapéuticamente necesario). La función uterina se evaluó determinando si un embrión fertilizado podía implantarse en el cuerno uterino regenerado. Los animales se aparearon con ratas macho 12 semanas después de la operación y se descubrió que las células derivadas de células madre embrionarias (hESC) podrían sobrevivir y recuperar la estructura y función de los cuernos uterinos en un modelo de rata con daño uterino severo, que resultó en preñez, la cual pudo mantenerse hasta una etapa tardía en todos los grupos. Los investigadores, observaron que el protocolo de diferenciación presentado sería útil en futuros estudios sobre el desarrollo del endometrio humano, así como para una posible terapia de reemplazo celular de úteros lesionados. En estos experimentos se puede observar que a pesar de que el origen de las células es distinto, ambas se injertaron en matrices artificiales y llevaron a cabo su objetivo que era reparar el tejido uterino.

El estudio de Padma et al. (2021) utilizaron tejido uterino de ratas, que fueron descelularizados y utilizados como injertos. Cada útero se descelularizó según uno de los siguientes protocolos: P1 y P2 se descelularizaron utilizando dimetilsulfóxido y Triton-X100 respectivamente, P3 fue descelularizado con desoxicolato de sodio (SDC). Cada parche de los respectivos protocolos se injertó por vía subcutánea en la nuca de la rata. Posteriormente a los 5, 15 y 30 días, se extrajo tejido desde la incisión para ser observados histológicamente Finalmente se concluyó que el protocolo 2 (P2), generó los andamios menos inmunogénicos y, por lo tanto, debería

ser el enfoque futuro para las aplicaciones de bioingeniería del útero *in vivo*. Con un enfoque parecido, Kuramoto et al. (2018) fabricaron láminas celulares endometriales por medio de extracción de miometrio de úteros de ratas y se trató el tejido con tripsina y ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), posteriormente se aislaron células endometriales con células epiteliales sembradas en injertos y células estromales en placas. Abrieron el útero de una rata, al cual le eliminaron la capa endometrial y se le implantó una lámina de células endometriales de tres capas en su lugar. Dos semanas después, se aparearon con machos y la preñez se confirmó mediante ecografía. En conclusión, el trasplante de láminas celulares logra regenerar tejido endometrial con estructura histológica, fisiológicamente funcional y con capacidad para sustentar preñez de manera similar a los tejidos endometriales normales. El empleo de estos métodos de trasplante en humanos y ratas con desórdenes endometriales podría dar lugar a una nueva terapia contra la infertilidad uterina y un gran avance en la bioingeniería.

En el experimento de Ji et al. (2022) se utilizaron matrices extracelulares descelularizadas derivadas de endometrio (dE-ECM), membrana amniótica placentaria (dA-ECM) y orina (dU-ECM), las cuales se obtuvieron de ratas, con el fin de reparar lesiones endometriales. Después, se les añadió una tinción específica para ser observadas por microscopía y realizar un análisis cuantitativo de ADN, colágeno y glicosaminoglicanos. Luego las matrices descelularizadas fueron injertadas por medio de un procedimiento quirúrgico en la cavidad abdominal. Finalmente, para determinar la regeneración de la estructura endometrial, se aparearon ratas hembra y machos, y se comprobó preñez. Con este procedimiento se concluyó que la implantación de matriz extracelular descelularizada de la membrana amniótica resultó ser más segura y confiable. Esto debido a que mostró el mejor efecto en la etapa temprana de la regeneración endometrial dado por su capacidad antiinflamatoria y anti fibrótica.

De igual forma Zhang H et al. (2020) adquirieron de forma particular una matriz de vejiga urinaria porcina para evaluar la regeneración endometrial en ratas con adherencias intrauterinas. Se creó un modelo de adherencia en ratas por medio de legrado endometrial. El cuerno uterino derecho se utilizó como lado experimental,

mientras que el izquierdo fue el de control. Para la evaluación de la función del modelo se dividieron en 4 grupos: grupo A con úteros que no recibieron tratamiento; el grupo B recibió incisiones y suturas en los cuernos uterinos sin raspar el endometrio; al grupo C se le realizaron incisiones, suturas y legrado y finalmente el grupo D, fue el que recibió el tratamiento con la matriz de vejiga urinaria posterior a un legrado de endometrio. A continuación, se evaluó su funcionamiento, observando si era receptivo a un óvulo fertilizado y si podía soportar un embrión hasta la última etapa de preñez. A las 4 semanas postoperatorias se comprobó la receptividad endometrial, al existir más fetos implantados en el grupo con matriz que en el de lesión, pero la cantidad fue mucho menor que en los grupos normal y el operado. Finalmente se concluyó que la matriz de vejiga urinaria promueve la reparación funcional del endometrio al promover migración y proliferación de células endometriales y la formación de vasos sanguíneos, mejorando receptividad y aumentando la fertilidad. Ambos experimentos suman evidencia de que es posible reparar el endometrio por medio de matrices extracelulares o injertos de diferentes especies.

En resumen, se obtuvieron resultados favorables en cuanto a los experimentos enfocados en útero, ya sea que se hayan utilizado andamios de tejidos descelularizados, andamios de hidrogeles o andamios cultivados con células madre. Destacan dentro de los experimentos *in vivo* realizados en ratas, los que llevaron a cabo gestaciones viables e incluso a término con fetos vivos, lo que por el contrario difícilmente se logra por medio de un trasplante uterino convencional. En general, todos los resultados suman evidencia para que en un futuro se logre llevar a cabo una reparación o reemplazo de tejidos uterinos humanos, mejorando así la calidad de vida y la fertilidad de las mujeres.

En cuanto a los ovarios, se describen diferentes corrientes en torno a los avances de la bioingeniería de estos. Por una parte, se encuentran los estudios que trabajan descelularizando el tejido ovárico para la formación de matrices o andamios (Hassanpour et al., 2018; Liu et al., 2017; Mirzaeian et al., 2020; Sistani et al., 2021; Sittadjody et al., 2017; Wu T et al., 2022). Estos experimentos se centraron en identificar protocolos de descelularización, estudiar la viabilidad celular dentro de

los andamios y probar la compatibilidad del xenotrasplante de las matrices ováricas. Por otro lado, se encuentran los estudios que trabajan en la formación de matrices sintéticas en base a biomateriales (Chiti et al., 2017; Luyckx et al., 2013), donde se probaron biomateriales como el alginato, la fibrina y el gel de metacrilato como candidatos viables para la elaboración de andamios 3D u ovarios artificiales en ratas. Como tercer tópico a analizar, se revisaron los estudios sobre inyecciones de plasma rico en plaquetas (Ahmadian et al., 2020) y la inyección intra ovárica de células madre mesenquimales (Li Y et al., 2020), los cuales señalan los distintos beneficios de la inyección intra ovárica. Finalmente, se encuentra la corriente que describe el uso de biomateriales de hidrogeles mediante la combinación de distintos materiales, con el fin de poder rescatar las disfunciones ováricas y reducir el daño isquémico de los folículos ováricos (Yoon, et al., 2017; Izadpanah et al., 2023).

En los estudios de andamios de tejido ovárico, los estudios de Hassanpour et al. (2018) y Sistani et al. (2021) fueron experimentos centrados en evaluar los protocolos y el tratamiento del tejido para su óptima descelularización y reducción de la citotoxicidad para las células encapsuladas por estos andamios. En el estudio de Hassanpour et al. (2018) las células ováricas fueron descelularizadas mediante un protocolo con Lauril Éster Sulfato de Sodio (SLES), el cual es un detergente aniónico que ha demostrado reducir los efectos inflamatorios y la trombogenicidad en trasplantes de corazón e hígados descelularizados (Kawasaki et al., 2015). Los resultados de este experimento sugieren que los ovarios descelularizados mediante este protocolo tienen una buena adaptación en los receptores del trasplante. En esta misma línea, Sistani et al. (2021) analizaron un protocolo con dodecilsulfato de sodio (SDS) en distintas concentraciones y encontraron que la utilización del dodecilsulfato de sodio por 72 horas era más eficaz para descelularizar el tejido ovárico preservando el contenido de la matriz extracelular. En cuanto a la siembra de las células madre dentro de estos armazones, Mirzaeian et al. (2020), observaron 3 protocolos de siembra celular diferentes, descubriendo que la siembra rotacional mediante un matraz rotatorio mejora la permeabilidad y la supervivencia de las células madre mesenquimales dentro de los andamios por sobre otros métodos convencionales o de inyección.

Para la evaluación de la respuesta inmunogénica en xenotrasplantes, Liu et al. (2017) realizaron estudios de trasplantes de ovarios descelularizados de porcinos en ratas, los que dieron como resultado reacciones inflamatorias mínimas en los estudios *in vivo*, demostrando seguridad biológica al no producir citotoxicidad en las células ováricas de rata. Además, se observó que los tejidos ováricos de porcinos trasplantados apoyaron la penetración de las células de la granulosa de rata y mostraron una mejoría en la secreción de la hormona estradiol.

Como segunda corriente, dentro de los estudios de matrices extracelulares, los experimentos de Luyckx et al. (2013) y posteriormente Chiti et al. (2017), se dedicaron a estudiar la viabilidad de la matriz de fibrina para la creación de ovarios artificiales funcionales. Luyckx et al. (2013) probaron diferentes combinaciones de concentraciones de fibrinógeno y trombina para la creación de las matrices de fibrina, las que demostraron que las concentraciones más bajas eran las opciones más viables para la construcción de las matrices tridimensionales. Chiti et al. (2017) por su parte, demostraron que las concentraciones más altas de fibrinógeno y trombina presentaban mejor consistencia, mientras que las concentraciones en relación 50 y 50 eran las que presentaron una ultraestructura y rigidez similares a las de la corteza ovárica. Ambos estudios concluyeron que la matriz de fibrina es un candidato viable para la creación de andamios ováricos artificiales.

Por otra parte, Wu T et al. (2022) realizaron evaluaciones *in vitro* de 2 polímeros de origen natural o sintético para la impresión 3D. Estos fueron el alginato, el hidrogel de metacrilato (GelMA) y la combinación entre ambos biomateriales (alginato+GelMA). Se encontró que los andamios de alginato eran frágiles e inestables. Sin embargo, aunque la combinación del alginato con hidrogel de metacrilato formaba buenos andamios, las rejillas eran muy opacas como para observar los folículos con claridad, por lo que los autores descartan esta combinación y sugieren la utilización de alginato sin combinación para futuras investigaciones. No obstante, los andamios de hidrogel de metacrilato formaban rejillas regulares, claras y suaves, considerándose una opción viable para el desarrollo, crecimiento y transferencia folicular.

En el estudio de Sittadjody et al. (2017) se comparó una terapia de reemplazo hormonal para la disfunción ovárica en menopausia en base a células con terapias tradicionales mediante la utilización de hormonas como progestágenos y estradiol en distintas combinaciones. Para el estudio se encapsularon células de la teca y granulosa de óvulos de rata en andamios que imitan la estructura ovárica y fueron trasplantados en bolsas omentales en el epiplón de las ratas con disfunción ovárica. Al comparar los resultados óseos de las ratas, se comprobó que las ratas con terapia celular tuvieron mejores resultados en cuanto a densidad y porosidad ósea, además de lograr mantener la capa de endometrio al nivel de las ratas sin disfunción ovárica.

Otra de las corrientes estudiadas fueron las inyecciones. Ahmadian et al. (2020), quienes estudiaron la inyección intra ovárica de plasma rico en plaquetas en el tejido ovárico, con la finalidad de evaluar la eficacia del plasma en el rejuvenecimiento ovárico de un modelo de insuficiencia ovárica prematura, señalan que la inyección de plasma rico en plaquetas puede restaurar la función de los ovarios con insuficiencia ovárica prematura. Además, la terapia con plasma rico en plaquetas podría considerarse como una eventual estrategia alternativa para una variedad de complicaciones relacionadas con la infertilidad femenina, incluida la insuficiencia ovárica prematura. Por su parte, Li Y et al. (2020) estudiaron si la inyección intra ovárica de células madre mesenquimales derivadas de cordón umbilical solas o dentro de hidrogeles de fibrina, puede restaurar la función ovárica en un modelo de rata con síndrome de ovario poliquístico, logrando demostrar que la inyección intra ovárica de células madre mesenquimales derivadas de cordón umbilical humano, encapsuladas en gel de fibrina sí fue capaz de ayudar a restaurar la estructura ovárica en el síndrome de ovario poliquístico.

Finalmente, la tercera corriente analizada fueron los hidrogeles. Yoon, et al. (2017) señalaron que el soporte del hidrogel permite la función de los ovarios artificiales *in vitro* e *in vivo* al mantener la viabilidad y funcionalidad de distintas células. Además, señala que la implantación de hidrogel vascularizado con esferoides ováricos podría usarse como un enfoque alternativo a la terapia hormonal estándar en las mujeres. Sin embargo, en un experimento descrito por Izadpanah

et al. (2023) donde se compara un hidrogel de alginato-fibrina con el propósito de poder promover la angiogénesis en ovarios de ratas, demuestra que por sí solo no es un soporte adecuado para promover esta, sino que, junto a la melatonina, logran promover la angiogénesis en ovarios.

Como se puede observar, todos los resultados de los estudios relacionados a ovarios antes mencionados sugieren diversos enfoques y planteamientos para la regeneración de la función ovárica en casos de, por ejemplo, disfunción ovárica prematura, ovario poliquístico, síndrome de ovario poliquístico, infertilidad, menopausia, entre otras. Además, estos estudios han logrado que la bioingeniería junto con la ingeniería de tejidos sea un área en la que se ha de indagar más respecto a futuras investigaciones en lo que conlleva el campo de la Gineco-Obstetricia, como lo es el caso de la infertilidad, enfermedades endocrinas y metabólicas, problemas con el eje Hipotálamo-Hipofisario, entre otras, que puedan conllevar a una dificultad en el funcionamiento natural de los ovarios.

Por último, se describen los avances de la bioingeniería en la reparación de piso pélvico para la formación de matrices o andamios. Radwan-Pragłowska et al. (2020) y Stangel-Wójcikiewicz et al. (2019) llevaron a cabo experimentos *in vitro* utilizando principalmente quitosano como biomaterial. Ambos estudios destacan la prometedora capacidad de los andamios de quitosano en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos. En sus investigaciones, se enfocaron en la síntesis de estos andamios, utilizando diversos agentes reticulantes y condiciones de síntesis. Se realizaron análisis de espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica, porosidad, densidad y propiedades mecánicas. Además, se evaluaron aspectos como la biodegradación, propiedades antioxidantes, cultivo celular y citotoxicidad. Los resultados obtenidos fueron beneficiosos en cuanto a porosidad, capacidad de engrosamiento y actividad antioxidante. No obstante, se identificó la necesidad de modificar la combinación de agentes de reticulación, es decir, mejorar el entrecruzamiento de ácido glicólico, ácido aspártico, ácido adípico y ácido levulínico con quitosano, mediante el uso de ácidos bifuncionales con menor acidez para evitar efectos citotóxicos en las células cultivadas. Stangel-Wójcikiewicz et al. (2019) también destacaron que la temperatura de congelación puede influir en el tamaño,

forma y densidad de los poros. Los resultados señalan que no se observó toxicidad en el cultivo celular en ninguno de los casos. Ambos estudios destacan la necesidad de investigaciones futuras para entender de mejor manera su potencial terapéutico.

Los estudios realizados por Wu C et al. (2022) y Mangir et al. (2016) se centraron en mejorar las propiedades mecánicas, hidrofiliidad y compatibilidad celular de materiales utilizados en la reparación del prolapso de órganos pélvicos.

En el caso de Wu C et al. (2022), se creó un recubrimiento de hidrogel con ácido tánico y metacrilato (TA@GelMA) para mallas de polipropileno que mostraron propiedades mecánicas adecuadas para resistir la presión pélvica. Se llevaron a cabo pruebas tanto *in vitro* como *in vivo* para caracterizar estos complejos de hidrogel y malla. Por otro lado, en el experimento de Mangir et al. (2016), se fabricaron estructuras utilizando ácido ascórbico (AA) y ascorbato-2-fosfato (A2P) mediante un proceso de electrohilado en emulsión, llegando a la conclusión de que los andamios con ácido ascórbico y ascorbato-2-fosfato son más fuertes tanto en estado seco como húmedo. Ambos autores mencionan que existe un aumento en la hidrofiliidad y una mejora en la compatibilidad celular de los materiales modificados. Adicionalmente, Wen et al. (2023) desarrolló un hidrogel denominado PNB@GelMA a través de la síntesis de GelMA (gel de metacrilato) y nanopartículas de azul de Prusia, seguido de irradiación ultravioleta para el entrecruzamiento. Este hidrogel también mostró propiedades mecánicas satisfactorias, buena histocompatibilidad y capacidad de regeneración tisular. Además, se analizó su respuesta al tratamiento de choque térmico, lo que confirmó la proliferación de células madre mesenquimales. En síntesis, los estudios de Wu C et al. (2022), Mangir et al. (2016) y Wen et al. (2023) lograron propiedades mecánicas satisfactorias, mayor hidrofiliidad y mejor compatibilidad celular.

Los autores Wu C et al. (2022) y como Marinaro et al. (2021) llevaron a cabo estudios utilizando como biomaterial principal el polipropileno y ambos utilizaron el recubrimiento de hidrogel de anhídrido metacrilato (GelMA) con ácido tánico (TA@GelMA) para mallas de polipropileno. Marinaro et al. (2021) realizaron la optimización de recubrimiento de mallas de polipropileno con sellador de fibrina compuesta de fibrinógeno y trombina, evaluando las cantidades adecuadas de

estas. Se aplicó un tratamiento con plasma a las mallas de polipropileno y recubrimiento con fibrina en monocapa y bicapa con diferentes concentraciones. Posteriormente, sembraron células madre mesenquimales en las mallas y realizaron ensayos para evaluar la adhesión, expresión génica y la respuesta inmune. Se analizaron los resultados a través de citometría de flujo y microscopía de fluorescencia, señalando una menor resistencia mecánica en la malla con recubrimiento monocapa, mayor viabilidad de las células madre mesenquimales y una menor respuesta inflamatoria en mallas bicapa. Por otro lado, Wu C et al. (2022) investigaron las características de las mallas, comparando sus propiedades físicas, histológicas y bioquímicas. En este caso, el complejo de malla de polipropileno e hidrogel de anhídrido metacrilato con ácido tánico (TA@GelMA) demostró buena hidrofiliidad, propiedades mecánicas, un aumento en la proliferación celular y óptima capacidad hemostática. Además, se observó una menor inflamación crónica, una mejora en la integración de los tejidos con la malla de polipropileno, demostrando una buena compatibilidad que promueve la reparación y remodelación de los tejidos disminuyendo la respuesta a cuerpo extraño. En conclusión, estos estudios se centraron en mejorar mallas de polipropileno mediante recubrimientos para aplicaciones biomédicas, logrando mayor resistencia y viabilidad celular con recubrimientos de hidrogel y fibrina, sin efectos adversos.

Por otro lado, Udpa et al. (2013) describieron en su estudio la preparación y caracterización de mallas recubiertas con quitosano, para lo cual se llevaron a cabo pruebas tanto *in vitro* como *in vivo*. En todos los experimentos descritos, los implantes conservaron su capacidad de contractibilidad vaginal y sus propiedades biomecánicas, demostrando que el recubrimiento de quitosano promovió el crecimiento de fibras musculares y redujo las reacciones inflamatorias internas. Estos enfoques muestran la importancia de los recubrimientos para mejorar las mallas biomédicas.

Spelzini et al. (2014) Investigaron cuatro biomateriales comerciales para el prolapso de órganos pélvicos mediante la preparación celular y siembra en andamios. Se tomaron muestras de Surgisis, Pelvicol, Gynemesh y Pelvitex. Se

realizaron análisis microscópicos y se llevaron a cabo cirugías experimentales implantando mallas en ratas, algunas cultivaron células madre mesenquimales. Se evaluaron propiedades mecánicas y se realizaron pruebas histológicas en las muestras postoperatorias. En cuanto a los resultados del experimento, los andamios de Surgisis y Pelvitex demostraron ser propicios para la proliferación celular *in vitro*. En las pruebas *in vivo*, se observó la formación de seromas y reabsorción de la malla. A nivel histológico, la neovascularización fue mayor con el uso de células madre mesenquimales, además de mostrar mayor resistencia en cuanto a tracción mecánica. Además, las células madre mesenquimales pueden desempeñar un papel clave al reducir la respuesta antiinflamatoria sistémica asociada con materiales sintéticos. Estos hallazgos destacan el potencial de ciertos materiales de implantes en cirugías del piso pélvico para respaldar el crecimiento de células madre mesenquimales y mejorar las propiedades de las mallas biológicas.

Hympánová et al. (2020), evaluaron tres tipos de implantes, Restorelle textil ultraligero de polipropileno, policarbonato de ureidopirimidinona biodegradable electrohilado y malla de poliuretano electrohilado en un modelo de oveja para la reparación simulada de prolapso vaginal. Laursen et al. (2023), desarrollaron implantes de malla de policaprolactona electrohilada recubierta de factor de crecimiento del tejido conectivo/ Polietilenglicol-fibrinógeno con células madre mesenquimales, la cual se compuso de andamios fabricados mediante electrohilado de policaprolactona al 12%, que se recubrieron con hidrogel policaprolactona-polietilenglicol-fibrinógeno con células madre mesenquimales cultivadas previamente. En este estudio centraron su atención en el soporte a largo plazo sin complicaciones relacionadas con la malla. Por otro lado, Yang et al. (2021) evaluaron el uso de andamios electrohilados compuestos con matriz amniótica descelularizada y polímeros biocompatibles en el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos, con un enfoque en la capacidad de adaptación, vascularización, respuesta inflamatoria y reparación de tejidos en la zona pélvica. Laursen et al. (2023) y Yang et al. (2021) utilizaron distintos biomateriales para evaluar la capacidad de adaptación y estabilidad del tejido dañado, y según Laursen et al.

(2023), el uso de mallas de nanofibras electrohiladas con factor de crecimiento de tejido conectivo y células madre mesenquimales, promovió una alta vascularización.

Lai et al. (2021), enfocaron su estudio en el análisis de mallas biomédicas. Destacaron que la malla base de celulosa bacteriana exhibe una mayor resistencia a la rotura y una mejor integración en el tejido huésped en comparación con la malla de colágeno (celulosa bacteriana y colágeno). Además, observan una mayor viabilidad celular en la malla de celulosa bacteriana recubierta de colágeno, aunque la malla celulosa bacteriana y colágeno muestra indicios de células inflamatorias e infiltración en implantes transvaginales en ovejas. Estos hallazgos sugieren que las mallas basadas en celulosa bacteriana pueden ser preferibles en términos de respuesta del huésped y resistencia, aunque la malla de celulosa bacteriana y colágeno presenta ventajas en cuanto a viabilidad celular en ambientes *in vitro*. Por otro lado, Lü et al. (2019) llevaron a cabo un experimento *in vitro* en el que utilizaron tres tipos de monofilamentos de polidioxanona de diferentes diámetros para crear muestras de malla con diversas formas y tamaños de poro. Evaluó también las propiedades de tracción y rigidez de los monofilamentos por separado antes de incorporarlos en las mallas resultantes. Estas mallas se crearon a partir de tres tipos de monofilamento y diferentes combinaciones de forma, tamaño y tipo de poro. Se realizaron pruebas de densidad superficial, espesor, rigidez a la flexión, resistencia a la tracción, fuerza a la ruptura y fuerza de extracción a la sutura en cada muestra, así como se evaluó la degradación *in vitro* de la polidioxanona en tres muestras de monofilamento. En síntesis, el estudio de Lai et al. (2021) se centra en que la malla base (celulosa bacteriana) muestra mayor resistencia y mejor integración en el tejido que la malla de colágeno, aunque la celulosa bacteriana y colágeno tienen ventajas en cuanto a viabilidad celular. Por otro lado, Lü et al. (2019) buscaban crear mallas con diferentes propiedades mecánicas y posteriormente evaluar su degradación. Estos estudios presentan diversas opciones de tratamiento y reparación del piso pélvico, desde el prolapso de órganos pélvicos hasta la incontinencia urinaria por esfuerzo, utilizando una variedad de biomateriales y técnicas. Estos avances prometen un potencial clínico importante, aunque se necesitan investigaciones adicionales para su implementación práctica.

En cuanto a las limitaciones identificadas en el análisis de estos estudios se puede mencionar la falta de experimentación *in vivo* en modelos de animales grandes como ovinos, bovinos y porcinos, así como la ausencia de modelos animales más similares a los humanos como el caso de primates. La falta de datos provenientes de experimentos en estos modelos más cercanos a la anatomía y fisiología humana limita la evaluación en cuanto a viabilidad y eficacia de la ingeniería de tejidos en la construcción de órganos pélvicos. Para futuras investigaciones se sugiere revisar los avances ligados sólo a la terapéutica con modelos humanos, para determinar el verdadero avance que ha significado la bioingeniería de tejidos en el área gineco-obstétrica y facilitará el desarrollo de estrategias más efectivas para la fabricación de órganos pélvicos funcionales.

CONCLUSIÓN

El impacto de la bioingeniería en el campo de la Gineco-Obstetricia durante la última década se ha manifestado de manera significativa, se ha evidenciado a través de una serie de experimentos que han culminado en la recreación exitosa de tejidos nativos. Este logro se ha alcanzado mediante la aplicación y desarrollo de andamios tanto naturales como sintéticos, principalmente en estudios con modelos animales. Dicho avance abre la posibilidad de implementar estos tejidos en seres humanos en el futuro, ofreciendo así una solución prometedora y viable para el tratamiento de patologías relacionadas con el aparato reproductor femenino. Además, este enfoque podría desempeñar un papel crucial en la problemática asociada al déficit de trasplantes de órganos.

La ingeniería de tejidos ha emergido como una opción prometedora en el ámbito de la reparación y reemplazo de úteros afectados por diversas patologías. En este contexto, se ha observado que ha ofrecido una alternativa viable para abordar lesiones en el endometrio, el cuello uterino y las adherencias intrauterinas. A través de diversos métodos, como la descelularización, la fabricación de hidrogeles y la aplicación de células madre, se ha logrado no solo evidenciar la posibilidad de restaurar la funcionalidad adecuada del útero, sino que también de recuperar la fertilidad de manera efectiva. Los avances en modelo animal con este enfoque innovador abren nuevas perspectivas en el tratamiento y mejora de la salud reproductiva para humanos.

En cuanto a los estudios de ovarios, tras el análisis de diversas corrientes llevado a cabo a través de estudios realizados por distintos autores, se puede concluir que la ingeniería de tejidos ha demostrado ser eficaz en la reparación y reemplazo de ovarios. La mayoría de las investigaciones revisadas destacan que la disfunción ovárica prematura fue la principal patología abordada con éxito mediante este enfoque. Estos resultados confirman de manera concluyente que la ingeniería

de tejidos se presenta como un medio viable para la reparación y sustitución de órganos afectados.

En última instancia, los estudios revisados sobre bioingeniería para la reparación del piso pélvico señalan avances prometedores. La utilización de biomateriales como quitosano, hidrogel, y mallas electrohiladas ha mejorado propiedades mecánicas, hidrofiliidad y compatibilidad celular. La modificación de materiales base, como el polipropileno, mediante recubrimientos de fibrina, hidrogel o quitosano, muestra resultados positivos en términos de resistencia y viabilidad celular. La evaluación de diferentes implantes y andamios destaca la importancia de la adaptación del tejido y la estabilidad a largo plazo. Además, la selección de mallas biomédicas, considerando factores como la resistencia a la rotura y la viabilidad celular, juega un papel crucial en la respuesta del huésped. En conjunto, estos avances ofrecen un potencial clínico significativo para el tratamiento del prolapso de órganos pélvicos y la incontinencia urinaria por esfuerzo, aunque se requiere más investigación para su implementación práctica de manera efectiva.

En conclusión, la bioingeniería en Chile se encuentra en una etapa incipiente, aún no reconocida en su real magnitud para el futuro de la medicina, especialmente en el ámbito de la matronería. La falta de atención y estudios dedicados a esta disciplina en relación con la Gineco-Obstetricia resalta la necesidad fundamental de que matrones asuman un papel más activo en la investigación y la bioingeniería. Como profesionales de la salud, existe la responsabilidad de involucrarse en este campo emergente integrando conocimientos de la medicina regenerativa, ya sea en el área investigativa, como en el área clínica, tanto en la prevención, tratamiento y en la rehabilitación posterior a patologías. La colaboración entre matrones y expertos en el área de la bioingeniería podría abrir nuevas oportunidades para la aplicación que brindan por ejemplo, almacenar y preservar las células madre de cordón umbilical, factores de crecimiento o las células derivadas del plasma en bancos de células para su uso a futuro; y colaborar así con la labor educativa de los profesionales del área de la salud, permitiendo que las personas puedan tomar decisiones informadas tempranamente, privilegiando la autonomía del paciente.

La falta de estudios en humanos destaca la urgencia de que los profesionales de la salud, especialmente matrones, se involucren y contribuyan activamente en la investigación y adquisición de datos en esta área. Esto posibilitará no solo entregar información precisa sobre las opciones disponibles que brinda la bioingeniería, sino que también, contribuir al desarrollo de protocolos clínicos específicos para situaciones gineco-obstétricas. La falta de aplicaciones clínicas a mediano y largo plazo resalta la importancia de impulsar investigaciones *in vivo*, donde la colaboración entre profesionales de la salud y expertos en el área de la bioingeniería pueda desempeñar un papel crucial en el avance de este campo prometedor, beneficiando así a las mujeres y a la medicina Gineco-Obstétrica en general.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmadian, S., Sheshpari, S., Pazhang, M., Miranda-Bedate, A., Beheshti, R., Abbasi, M. M., Nouri, M., Rahbarghazi, R., & Mahdipour, M. (2020). Intra-ovarian injection of platelet-rich plasma into ovarian tissue promoted rejuvenation in the rat model of premature ovarian insufficiency and restored ovulation rate via angiogenesis modulation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00638-4>.
- Ashammakhi, N., GhavamiNejad, A., Tutar, R., Fricker, A., Roy, I., Chatzistavrou, X., Hoque Apu, E., Nguyen, K.-L., Ahsan, T., Pountos, I., & Caterson, E. J. (2022). Highlights on Advancing Frontiers in Tissue Engineering. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 28(3), 633–664. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2021.0012>
- Asti, A., & Gioglio, L. (2014). Natural and synthetic biodegradable polymers: Different scaffolds for cell expansion and tissue formation. En *International Journal of Artificial Organs* (Vol. 37, Número 3, pp. 187–205). Wichtig Publishing Srl. <https://doi.org/10.530/ijao.5000307>
- Bakhshandeh, B., Zarrintaj, P., Oftadeh, M. O., Keramati, F., Fouladiha, H., Sohrabi-Jahromi, S., & Ziraksaz, Z. (2017). Tissue Engineering; Strategies, tissues, and biomaterials. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*, 33(2), 144-172. <https://doi.org/10.1080/02648725.2018.1430464>

Brownell, D., Chabaud, S., & Bolduc, S. (2022). Tissue Engineering in Gynecology. *International journal of molecular sciences*, 23(20).

<https://doi.org/10.3390/ijms232012319>

Bustamante, A. U. M., & Villarreal, I. N. P. (2008). Motivación a la donación de órganos en Chile. *Panorama Socioeconómico*, 26(36), 86-97.

<https://biblat.unam.mx/hevila/Panoramasocioeconomico/2008/no36/7.pdf>

Chen, L., Li, L., Mo, Q., Zhang, X., Chen, C., Wu, Y., Zeng, X., Deng, K., Liu, N., Zhu, P., Liu, M., & Xiao, Y. (2022). An injectable gelatin/sericin hydrogel loaded with human umbilical cord mesenchymal stem cells for the treatment of uterine injury. *Bioengineering & translational medicine*, 8(1), e10328.

<https://doi.org/10.1002/btm2.10328>

Chiti, M. C., Dolmans, M., Mortiaux, L., Zhuge, F., Ouni, E., Shahri, P. A. K., Van Ruymbeke, E., Champagne, S., Donnez, J., & Amorim, C. A. (2017). A novel fibrin-based artificial ovary prototype resembling human ovarian tissue in terms of architecture and rigidity. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35(1), 41-48. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1091-3>

Collins, M. N., & Birkinshaw, C. (2013). Hyaluronic acid-based scaffolds for tissue engineering - A review. En *Carbohydrate Polymers* (Vol. 92, Número 2, pp. 1262–1279). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.028>

Daryabari, S. S., Kajbafzadeh, A.-M., Fendereski, K., Ghorbani, F., Dehnavi, M., Rostami, M., Garajegayeh, B. A., & Tavangar, S. M. (2019). Development of an efficient perfusion-based protocol for whole-organ decellularization of the ovine uterus as a human-sized model and in vivo application of the bioscaffolds. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(6), 1211–

1223. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01463-4>

Guan, C., Wang, R., Zhang, L., Sun, X., Zhang, D., Wang, H., Xia, H., Xia, Q., & Ma, X. (2022). Genetically engineered FGF1-Sericin hydrogel material treats intrauterine adhesion and restores fertility in rat. *Regenerative Biomaterials*, 9. <https://doi.org/10.1093/rb/rbac016>

Hanuman, S., & Nune, M. (2021). Design and Characterization of Maltose-Conjugated Polycaprolactone Nanofibrous Scaffolds for Uterine Tissue Engineering. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*, 8 (2), 334-344. <https://doi.org/10.1007/s40883-021-00231-0>

Hassanpour, A., Talaei-Khozani, T., Kargar-Abarghouei, E., Razban, V., & Vojdani, Z. (2018). Decellularized human ovarian scaffold based on a sodium lauryl ester sulfate (SLES)-treated protocol, as a natural three-dimensional scaffold for construction of bioengineered ovaries. *Stem Cell Research & Therapy*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0971-5>

Health Resources & Services Administration [HRSA]. (2023). *Organ Donation Statistics*. <https://www.organdonor.gov/learn/organ-donation-statistics>

Hellström, M., Moreno-Moya, J. M., Bandstein, S., Bom, E., Akouri, R., Miyazaki, K., Maruyama, T., & Brännström, M. (2016). Bioengineered uterine tissue supports pregnancy in a rat model. *Fertility and Sterility*, 106(2), 487-496. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.03.048>

Hympánová, L., Rynkevic, R., Román, S., Da Cunha, M. G. M. C. M., Mazza, E., Zündel, M., Urbánková, I., Gallego, M. R., Vange, J., Callewaert, G., Chapple, C. R., MacNeil, S., & Deprest, J. (2020). Assessment of electrospun and ultra-lightweight polypropylene meshes in the sheep model

for vaginal surgery. *European Urology Focus*, 6(1), 190-198.

<https://doi.org/10.1016/j.euf.2018.07.024>

Izadpanah, M., Del Bakhshayesh, A. R., Bahroudi, Z., Seghinsara, A. M., Beheshti, R., Mahdipour, M., Zarnaghi, M. R., Hassanpour, P., Mardi, N., Rahbarghazi, R., & Abedelahi, A. (2023). Melatonin and endothelial cell-loaded alginate-fibrin hydrogel promoted angiogenesis in rat cryopreserved/thawed ovaries transplanted to the heterotopic sites. *Journal of biological engineering*, 17(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s13036-023-00343-x>

Ji, W., Wen, J., Lin, W., He, P., Hou, B., & Quan. (2022). Comparing the characteristics of amniotic membrane-, endometrium-, and Urinary-Derived ECMs and their effects on endometrial regeneration in a rat uterine injury model. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.861496>

Kawasaki, T., Kirita, Y., Kami, D., Kitani, T., Ozaki, C., Ikoma, Y., Toyoda, M., & Gojo, S. (2015). Novel detergent for whole organ tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103(10), 3364-3373.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.35474>

Kim, S. W., Kim, Y. Y., Kim, H., & Ku, S. Y. (2021). Recent Advancements in Engineered Biomaterials for the Regeneration of Female Reproductive Organs. En *Reproductive Sciences* (Vol. 28, Número 6, pp. 1612–1625). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH.
<https://doi.org/10.1007/s43032-021-00553-y>

Kuramoto, G., Shimizu, T., Takagi, S., Ishitani, K., Matsui, H., & Okano, T. (2018).

- Endometrial regeneration using cell sheet transplantation techniques in rats facilitates successful fertilization and pregnancy. *Fertility and sterility*, 110(1), 172–181.e4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.007>
- Kwak, E. A., & Lee, N. Y. (2019). Synergetic roles of TGF- β signaling in tissue engineering. *Cytokine*, 115, 60-63.
<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.12.010>
- Lai, C., Zhang, S., Chen, X., Sheng, L., Qi, T., & Yan, L. (2021). Development of a cellulose-based prosthetic mesh for pelvic organ prolapse treatment: in vivo long-term evaluation in an EWE vagina model. *Materials Today Bio*, 12, 100172. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100172>
- Laursen, S. H., Hansen, S. G., Taskin, M. B., Chen, M., Wogensen, L., Nygaard, J. V., & Axelsen, S. M. (2023). Electrospun nanofiber mesh with connective tissue growth factor and mesenchymal stem cells for pelvic floor repair: Long-term study. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 111(2), 392–401. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.35158>
- Li, F., Wang, L., Ma, Y., Duan, W., Martin-Saldaña, S., Zhu, Y., Zhang, X., Zhu, B., Li, C., Hu, S., Bao, M., Wang, T., Zhu, Y., Yang, F., & Bu, Y. (2023). Engineering self-healing adhesive hydrogels with antioxidant properties for intrauterine adhesion prevention. *Bioactive Materials*, 27, 82-97.
<https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.03.013>
- Li, G., & Sun, S. (2022). Silk Fibroin-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. En *Molecules* (Vol. 27, Número 9). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/molecules27092757>

- Lin, M., Lu, Y., & Chen, J. (2022). Tissue-engineered repair material for pelvic floor dysfunction. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.968482>
- Liu, W., Lin, S., Zhuo, R., Xie, Y., Pan, W., Lin, X., & Shen, F. (2017). Xenogeneic Decellularized Scaffold: a novel platform for ovary regeneration. *Tissue Engineering Part C-methods*, 23(2), 61-71.
<https://doi.org/10.1089/ten.tec.2016.0410>
- Li, Y., Guo, J., Deng, S., Gao, Z., Liu, Y., & Gu, Q. (2020). Fibrin facilitates mesenchymal stem cells to ameliorate rats with polycystic ovary syndrome. *Applied sciences*, 10(10), 3598. <https://doi.org/10.3390/app10103598>
- Li, Y., Li, C., Guo, L., Liu, X., Hua, K., & Zhang, X. (2022). Partial reconstruction of uterus cervix in rat by decellularized human uterine cervical scaffold combined with Adipose-Derived stem cells (ADSCs). *Journal of immunology research*, 2022, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2022/6287435>
- Li, X., Lv, H., Zhao, R., Ying, M., Samuriwo, A. T., & Zhao, Y. (2021). Recent developments in bio-scaffold materials as delivery strategies for therapeutics for endometrium regeneration. *Materials Today Bio*, 11, 100101.
<https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100101>
- Loh, Q. L., & Choong, C. (2013). Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. En *Tissue Engineering - Part B: Reviews* (Vol. 19, Número 6, pp. 485–502).
<https://doi.org/10.1089/ten.teb.2012.0437>
- Lukin, I., Erezuma, I., Maeso, L., Zarate, J., Desimone, M. F., Al-Tel, T. H., Dolatshahi-Pirouz, A., & Orive, G. (2022). Progress in Gelatin as Biomaterial

- for Tissue Engineering. *Pharmaceutics*, 14(6).<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061177>
- Lü, Y., Chen, S., Li, N., Guo, C., Hu, B., Chen, Y., & Zhou, S. (2019). Preparation of PDO mesh and research on its fabrication parameters. *Industria Textila*.
<https://doi.org/10.35530/it.070.03.1544>
- Luyckx, V. A., Dolmans, M., Vanacker, J., De Azevedo Scalercio, S. R., Donnez, J., & Amorim, C. A. (2013). First step in developing a 3D biodegradable fibrin scaffold for an artificial ovary. *Journal of Ovarian Research*, 6(1).
<https://doi.org/10.1186/1757-2215-6-83>
- Marinaro, F., Silva, J. M., Barros, A. A., Aroso, I. M. A., Gómez-Blanco, J. C., Jardín, I., López, J. J., Pulido, M., De Pedro, M. Á., Reis, R. L., Sánchez-Margallo, F. M., Casado, J. G., & López, E. (2021). A fibrin coating method of polypropylene meshes enables the adhesion of menstrual Blood-Derived mesenchymal stromal cells: a new delivery strategy for stem Cell-Based therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13385.
<https://doi.org/10.3390/ijms222413385>
- Mangir, N., Bullock, A. J., Román, S., Osman, N. I., Chapple, C. R., & MacNeil, S. (2016). Production of ascorbic acid releasing biomaterials for pelvic floor repair. *Acta Biomaterialia*, 29, 188-197.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.10.019>
- Masoomikarimi, M., Salehi, M., Noorbakhsh, F., & Rajaei, S. (2023). A Combination of Physical and Chemical Treatments Is More Effective in The Preparation of Acellular Uterine Scaffolds. *Cell journal*, 25(1), 25–34.
<https://doi.org/10.22074/cellj.2022.8396>

- Ministerio de Salud Chile. (s. f.). *Estadísticas actuales Lista de espera*. Yo dono vida: Ministerio de Salud Chile. Recuperado 22 de septiembre de 2023, de <https://yodonovida.minsal.cl/statistics/public/show/6>
- Ministerio de Sanidad. (2022). *La actividad mundial de trasplante de órganos se recupera y crece un 13,6% en 2021*. <http://www.transplant-observatory.org/>
- Mirzaeian, L., Eivazkhani, F., Hezavehei, M., Moini, A., Esfandiari, F., Valojerdi, M. R., & Fathi, R. (2020). Optimizing the cell seeding protocol to human decellularized ovarian scaffold: Application of Dynamic System for Bio-Engineering. *PubMed*, 22(2), 227-235.
<https://doi.org/10.22074/cellj.2020.6604>
- Ouni, E., Peaucelle, A., Haas, K. T., Van Kerk, O., Dolmans, M., Tuuri, T., Ojala, M., & Amorim, C. A. (2021). A blueprint of the topology and mechanics of the human ovary for next-generation bioengineering and diagnosis. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25934-4>
- Padma, A. M., Alshaikh, A. B., Song, M. J., Akouri, R., Oltean, M., Brännström, M., & Hellström, M. (2021). Decellularization protocol-dependent damage-associated molecular patterns in rat uterus scaffolds differentially affect the immune response after transplantation. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 15(7), 674–685.
- Peng, G., Liu, H., & Fan, Y. (2017). Biomaterial Scaffolds for Reproductive Tissue Engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 45(7), 1592–1607.
<https://doi.org/10.1007/s10439-016-1779-z>

- Pérez San Gregorio, M. Á., Rodríguez, A. M., & Galán Rodríguez, A. (2005). Problemas psicológicos asociados al trasplante de órganos. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, 5(1), 99-114.
- Radwan-Pragłowska, J., Stangel-Wójcikiewicz, K., Piątkowski, M., Janus, Ł., Matýsek, D., Majka, M., & Amrom, D. (2020). The Potential of Novel Chitosan-Based Scaffolds in Pelvic Organ Prolapse (POP) Treatment through Tissue Engineering. *Molecules*, 25(18), 4280.
<https://doi.org/10.3390/molecules25184280>
- Sehic, E., Thorén, E., Gudmundsdottir, I., Oltean, M., Brännström, M., & Hellström, M. (2022). Mesenchymal stem cells establish a pro-regenerative immune milieu after decellularized rat uterus tissue transplantation. *Journal of Tissue Engineering*, 13, 204173142211188.
<https://doi.org/10.1177/20417314221118858>
- Sistani, M. N., Zavareh, S., Valujerdi, M. R., & Salehnia, M. (2021). Characteristics of a decellularized human ovarian tissue created by combined protocols and its interaction with human endometrial mesenchymal cells. *Progress in Biomaterials*, 10(3), 195-206. <https://doi.org/10.1007/s40204-021-00163-6>
- Sittadjody, S., Saul, J. M., McQuilling, J. P., Joo, S., Register, T. C., Yoo, J. J., Atala, A., & Opara, E. C. (2017). In vivo transplantation of 3D encapsulated ovarian constructs in rats corrects abnormalities of ovarian failure. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01851-3>
- Song, T., Zhao, X., Sun, H., Li, X., Lin, N., Ding, L., Dai, J., & Hu, Y. (2015). Regeneration of uterine horns in rats using collagen scaffolds loaded with human embryonic stem cell-derived endometrium-like cells. *Tissue*

Engineering. Part A, 21(1–2), 353–361.

<https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0052>

Spelzini, F., Manodoro, S., Frigerio, M., Nicolini, G., Maggioni, D., Donzelli, E., Altomare, L., Farè, S., Veneziano, F., Avezza, F., Tredici, G., & Milani, R. (2014). Stem cell Augmented mesh materials: An in vitro and in vivo study. *International Urogynecology Journal*, 26(5), 675-683.

<https://doi.org/10.1007/s00192-014-2570-z>

Stangel-Wojcikiewicz, K., Piatkowski, M., Radwan-Pragłowska, J., Janus, L., Matysek, D., Majka, M., Kot, M., Amrom, D., & Wrobel, A. (2019). Microwave-assisted synthesis and characterization of novel chitosan-based biomaterials for pelvic organ prolapse treatment. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 70(3), 10.26402/jpp.2019.3.15. <https://doi.org/10.26402/jpp.2019.3.15>

Udpa, N., Iyer, S. R., Rajoria, R., Breyer, K. E., Valentine, H., Singh, B., McDonough, S. P., Brown, B. N., Bonassar, L. J., & Gao, Y. (2013). Effects of chitosan coatings on polypropylene mesh for implantation in a rat abdominal wall model. *Tissue Engineering. Part A*, 19(23–24), 2713–2723. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0739>

Vera, M., Alegría, L., Domínguez, J., Rebolledo R., Dib M., 2019. Donación y trasplante de órganos: análisis y propuestas para avanzar hacia una cultura de donación. *Temas de la Agenda Pública*, 14(117), 1-20. Centro de Políticas Públicas UC

Vimalraj, S. (2022). A concise review of VEGF, PDGF, FGF, notch, angiopoietin, and HGF signalling in tumor angiogenesis with a focus on alternative

- approaches and future directions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 221, 1428-1438.
- <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.129>
- Wei, Z., Hu, Y., He, X., Ling, W., Yao, J., Li, Z., Wang, Q., & Li, L. (2022). *iScience Biomaterializing the advances in uterine tissue engineering*.
<https://doi.org/10.1016/j.isc>
- Wen, J., Zhao, Z., Fang, F., Xiao, J., Wang, L., Cheng, J., Wu, J., & Miao, Y. (2023). Prussian Blue Nanoparticle-Entrapped GELMA gels laden with mesenchymal stem cells as prospective biomaterials for pelvic floor tissue repair. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2704.
<https://doi.org/10.3390/ijms24032704>
- World Health Organization: WHO. (2022, septiembre 16). *Enfermedades no transmisibles*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Wu, C., Zhou, Z., You, X., Guo, Y., Chen, P., Li, H., & Tong, X. (2022). Tannic acid-loaded hydrogel coating endues polypropylene mesh with hemostatic and anti-inflammatory capacity for facilitating pelvic floor repair. *Regenerative Biomaterials*, 9. <https://doi.org/10.1093/rb/rbac074>
- Wu, T., Gao, Y. Y., Su, J., Tang, X. N., Chen, Q., Ma, L. W., Zhang, J. J., Wu, J. M., & Wang, S. X. (2022). Three-dimensional bioprinting of artificial ovaries by an extrusion-based method using gelatin-methacryloyl bioink. *Climacteric: The Journal of the International Menopause Society*, 25(2), 170–178. <https://doi.org/10.1080/13697137.2021.1921726>

- Wu, X., Jia, Y. Y., Sun, X., & Wang, J. (2020). Tissue engineering in female pelvic floor reconstruction. En *Engineering in Life Sciences* (Vol. 20, Número 7, pp. 275–286). Wiley-VCH Verlag. <https://doi.org/10.1002/elsc.202000003>
- Yang, D., Fang, Z., Kang, R., & Liu, K. (2021). Composite electrospun scaffold containing decellularized amniotic matrix for pelvic organ prolapse. *Materials & Design*, 210, 110106. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2021.110106>
- Yoon, H. J., Lee, Y. J., Baek, S. W., Chung, Y. E., Kim, D. H., Lee, J. H., Shin, Y. C., Shin, Y. M., Ryu, C., Kim, H. S., Ahn, S. H., Kim, H., Won, Y. B., Lee, I., Jeon, M., Cho, S., Lee, B. S., Sung, H. J., & Choi, Y. S. (2021). Hormone autocrination by vascularized hydrogel delivery of ovary spheroids to rescue ovarian dysfunctions. *Science Advances*, 7(18). <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe8873>
- Yoshimasa, Y., Takao, T., Katakura, S., Tomisato, S., Masuda, H., Tanaka, M., & Maruyama, T. (2023). A decellularized uterine endometrial scaffold enhances regeneration of the endometrium in rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7605. <https://doi.org/10.3390/ijms24087605>
- Young, R. C., & Goloman, G. (2013). Allo- and Xeno-Reassembly of human and rat myometrium from cells and scaffolds. *Tissue Engineering Part A*, 19(19-20), 2112-2119. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0549>
- Zhang, H., Zhang, Q., Zhang, J., Sheng, F., Wu, S., Yang, F., & Li, W. (2020). Urinary bladder matrix scaffolds improve endometrial regeneration in a rat model of intrauterine adhesions. *Biomaterials Science*, 8(3), 988-996. <https://doi.org/10.1039/c9bm00651f>
- Zhang, X., Chen, G., Wang, Y., Fan, L., & Zhao, Y. (2022). Arrowhead Composite

Microneedle Patches with Anisotropic Surface Adhesion for Preventing
Intrauterine Adhesions. *Advanced Science*.

<https://doi.org/10.1002/advs.202104883>

ANEXOS

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS DE TITULACIÓN

1. Identificación del autor.

Nombre (s): Constanza Yasmín Bustamante Cofré Dirección: Escuela de Obstetricia y Matronería. Universidad San Sebastián. Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile. Teléfono: +56955617931 Email: cbustamantecofre@gmail.com
Nombre (s): Scarlet Belén Christophers Beltrán Dirección: Escuela de Obstetricia y Matronería. Universidad San Sebastián. Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile. Teléfono: +56985004932 Email: Belencita19321@gmail.com
Nombre (s): Daniela Francisca Cortés Farías Dirección: Escuela de Obstetricia y Matronería. Universidad San Sebastián. Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile. Teléfono: +56940271713 Email: Daniela.f.cortes.f@gmail.com
Nombre (s): Mariajosé Ignacia Gajardo Flores Dirección: Escuela de Obstetricia y Matronería. Universidad San Sebastián. Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile. Teléfono: +56976965339 Email: Mariajose.f.gajardo@gmail.com
Nombre (s): Antonia Belén Sánchez Andrade Dirección: Escuela de Obstetricia y Matronería. Universidad San Sebastián. Lota 2465, Providencia, Santiago, Chile. Teléfono: +56963424122 Email: Antoniasanchezandrade@gmail.com
Nombre (s): Camila Priscila Sandoval Vidal Dirección: Escuela de Obstetricia y Matronería. Universidad San Sebastián. Lota 2465,

Providencia, Santiago, Chile.

Teléfono: +56222215138

Email: Camila.prsicila.sandoval@gmail.com

2. Identificación del Trabajo de Titulación.

Título: Aportes de la ingeniería de tejidos a la Gineco-Obstetricia: una revisión (2013-2023).

Facultad: Ciencias para el Cuidado de la Salud.

Carrera: Obstetricia y Matronería.

Título o grado al que opta: Licenciatura en Obstetricia y Matronería

Profesor guía: Dr. Carlos Ignacio Godoy Guzmán

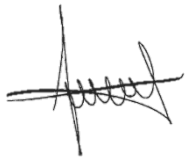
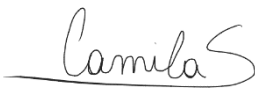
Fecha de entrega: 17 de noviembre de 2023

3. A través del presente formulario se autoriza la reproducción parcial o total de esta obra con fines académicos, por cualquier forma, medio o procedimiento, siempre y cuando se incluya la cita bibliográfica del documento.

Autorizo su publicación (marcar con una X según corresponda).

X	Inmediata.
	Desde esta fecha: _____ (mes/año).
	NO autorizo su publicación completa, solo resumen y metadatos.

Nombre, firma y Rut autor (es).

 Constanza Yasmín Bustamante Cofré 20.469.655-1	 Scarlet Belén Christophers Beltrán 20.804.580-6	 Daniela Francisca Cortés Farías 20.290.167-0
 Mariajosé Ignacia Gajardo Flores 20.297.910-6	 Antonia Belén Sánchez Andrade 20.680.237-5	 Camila Priscila Sandoval Vidal 20.635.680-4

