



*Universidad*  
**LATINA** *de Panamá*  
SUMMUM DESIDERIUM SAPIENTIA

FACULTAD DE INGENIERÍA

CARRERA DE INGENIERÍA BIOMÉDICA E INSTRUMENTACIÓN

**“DESARROLLO DE UN APÓSITO DE SUBMUCOSA INTESTINAL  
DESCELULARIZADA Y MICROALGAS COMO TRATAMIENTO PARA LESIONES  
CUTÁNEAS CRÓNICAS”**

**Presentado por:**

**Carlos Enrique Adams Quintana**

**3-748-711**

**Director de tesis:**

**Dr. Diego A. Reginensi E.**

**Tutor:**

**Mgr. Alfredo Lescher**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE LICENCIATURA  
EN INGENIERÍA BIOMÉDICA E INSTRUMENTACIÓN

**PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**2025**

## DEDICATORIA

---

A mi querida familia, por brindarme la oportunidad de seguir mis sueños y por su apoyo incondicional para alcanzar esta meta. Y por último a mi perrita Linda.

## AGRADECIMIENTOS

---

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Dios, por ser mi guía y fortaleza en cada paso de este camino. Sin Su presencia, este logro no hubiera sido posible. A mi madre, Indira Quintana, le agradezco infinitamente por su amor incondicional, su entrega y su apoyo constante. Ella ha sido mi mayor ejemplo de lucha y perseverancia, y gracias a sus palabras de aliento y sacrificios he podido llegar hasta aquí. Este triunfo también es suyo, porque siempre creyó en mí incluso cuando yo dudaba.

A mi padre, Carlos Adams, gracias por ser mi guía, por sus consejos llenos de sabiduría y por enseñarme el valor del esfuerzo y la disciplina. Su confianza en mis capacidades y su apoyo inquebrantable me han dado la seguridad necesaria para seguir adelante en este proceso académico y personal. A mi abuelita, Gloria Rentería, con todo mi cariño, gracias por sus oraciones, por su ternura y por esa fe inquebrantable que siempre me transmitió. Su apoyo silencioso y lleno de amor ha sido un pilar que me sostuvo en los momentos más difíciles.

A mi director de tesis, el Dr. Diego Reginensi, le expreso mi más sincero agradecimiento por su guía constante y la generosidad al compartir sus conocimientos y experiencias. Asimismo, al Dr. Luis Luis por sus valiosos consejos, su apoyo y la confianza que siempre me brindó. Más allá de tutores, ambos han sido verdaderos mentores que me inspiraron a crecer como estudiante y como persona, transmitiéndome no solo herramientas académicas, sino también el ejemplo de compromiso y vocación por la investigación.

## DECLARACIÓN JURADA

---



### UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ DECLARACIÓN JURADA

Yo Carlos Enrique Adams Quintana con cédula de identidad personal número, 3-748-711 estudiante graduando del programa/carrera de Licenciatura en Ingeniería Biomédica e Instrumentación declaro bajo la gravedad del juramento que el material que aparece en este trabajo de graduación, en la opción: tesis, es de mi producción intelectual, en razón de lo cual exonero a la Universidad Latina de Panamá de cualquier responsabilidad relacionada a este aspecto.

Como constancia firmo la presente declaración el día 13 del mes de noviembre del año 2025.

Firmado: 

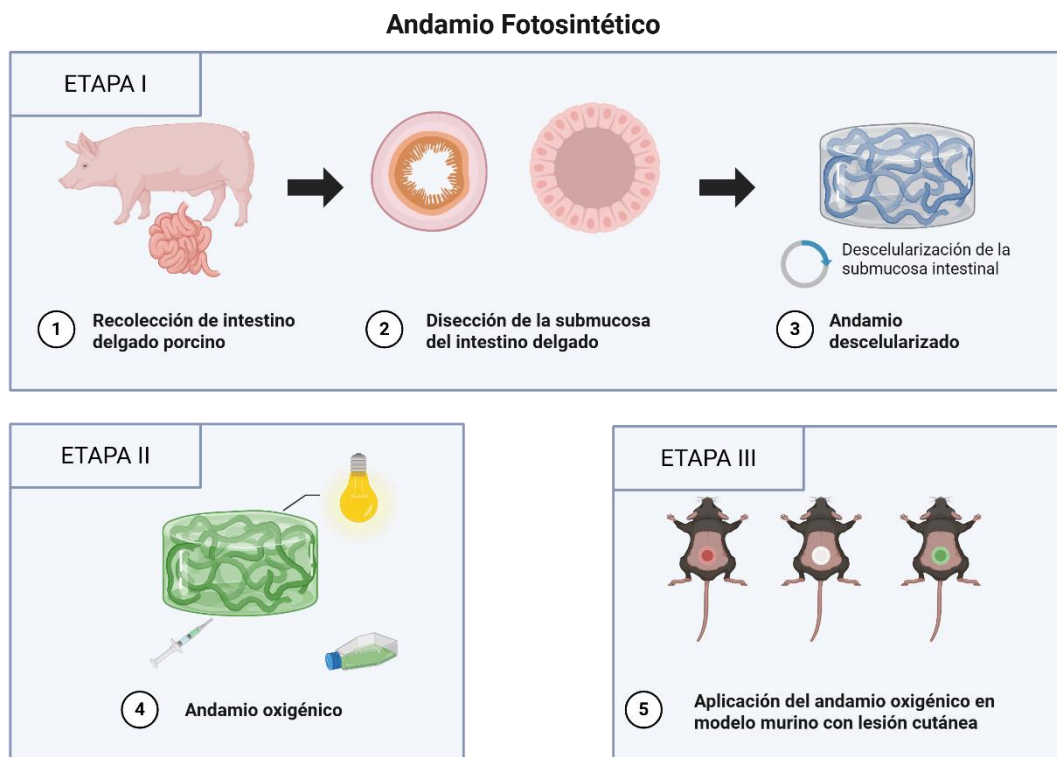
Cédula: 3-748-711

## RESUMEN

---

En el campo de la bioingeniería y la medicina regenerativa, existe un creciente número de investigaciones orientadas a desarrollar materiales innovadores que favorezcan la reparación y regeneración de tejidos dañados. En el caso de las heridas cutáneas crónicas, la limitada vascularización y la deficiente oxigenación del tejido lesionado dificultan el proceso de cicatrización, por lo que se requieren estrategias terapéuticas que aporten simultáneamente soporte estructural y estímulos bioactivos para promover la recuperación. El proyecto de opción de grado titulado “Desarrollo de un apósito de submucosa intestinal descelularizada y microalgas como tratamiento para lesiones cutáneas crónicas” tiene como objetivo principal la obtención de un andamio biocompatible a partir de tejido porcino descelularizado y su posterior funcionalización con microalgas fotosintéticas, con el fin de generar oxígeno in situ en la zona lesionada y favorecer la regeneración tisular. Este proyecto se desarrolló en dos etapas experimentales: (i) la primera consistió en la obtención y descelularización de la submucosa del intestino delgado porcino, optimizando un protocolo químico y físico para preservar la estructura de la matriz extracelular (ECM) y eliminar componentes celulares potencialmente inmunogénicos; (ii) la segunda etapa se enfocó en la generación de un parche fotosintético mediante la incorporación de microalgas viables en el andamio descelularizado, evaluando su estabilidad, viabilidad celular y capacidad de producción de oxígeno. Los resultados obtenidos en la primera etapa confirmaron la eliminación efectiva del ADN y proteínas celulares, conservando las fibras de colágeno y la arquitectura tridimensional de la ECM, lo que proporciona un soporte estructural óptimo para la posterior incorporación de células fotosintéticas. En la

segunda etapa, la integración de microalgas en el andamio demostró que éstas se mantenían viables y metabólicamente activas, liberando oxígeno bajo condiciones de iluminación controlada. Este aporte de oxígeno representa un potencial significativo para mejorar el microambiente hipóxico característico de las heridas crónicas. El conocimiento generado a partir de este trabajo puede ser de gran relevancia en el diseño de nuevas terapias avanzadas para heridas complejas, lo que abre la posibilidad de emplear biomateriales fotosintéticos como herramientas terapéuticas innovadoras en medicina regenerativa y en el cuidado avanzado de la piel.



*Figura 1 Etapas del proyecto*

**Resumen gráfico.** Resumen de las etapas experimentales desarrolladas, en donde la etapa (I) está dirigida a la obtención y descelularización del tejido para generar el andamio biocompatible y (II) a la generación del parche fotosintético y la (III) .

## Tabla de contenido

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>3</b>
<b>DECLARACIÓN JURADA.....</b>	<b>4</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>5</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>11</b>
<b>1. EL PROBLEMA .....</b>	<b>11</b>
1.1 Antecedentes del problema de investigación .....	12
1.2 Planteamiento del problema .....	14
1.3 Justificación de la investigación .....	16
<b>1.4 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
1.4.1 Objetivo General .....	19
1.4.2 Objetivos Específicos.....	19
1.5 Alcance y limitaciones.....	20
1.6 Línea de investigación.....	22
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>23</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>24</b>
2.1 Antecedentes de la investigación .....	24
2.2 Bases teóricas que sustentan la investigación.....	25
2.2.1 Lesiones cutáneas .....	28
2.2.2 Proceso de cicatrización.....	30
2.2.3 Cicatrización de heridas agudas y crónicas.....	33
2.2.4 Terapias actuales para las lesiones cutáneas.....	35
2.2.5 Andamios biológicos .....	37
2.2.7 Matriz Extracelular descelularizada, una alternativa en Biomedicina .....	41
2.2.8 Composición y función de la matriz extracelular.....	41
2.2.9 Composición específica de la matriz extracelular de la submucosa intestinal	
<b>43</b>	
2.2.10 Matriz extracelular descelularizada, como andamio en ingeniería tisular en lesiones de la piel.....	44
2.3 Glosario de términos .....	46
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>49</b>

<b>3.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>49</b>
3.1	Tipo y diseño de la investigación .....	50
3.2	Materiales equipos y reactivos.....	51
3.3	Procedimiento de la investigación.....	53
3.4	Obtención y caracterización de matriz extracelular de submucosa intestinal porcina.....	53
3.4.1	Recolección y limpieza de materia prima .....	53
3.4.2	Obtención de la submucosa intestinal .....	54
3.5	Descelularización .....	56
3.5.1	Esterilización del andamio descelularizado .....	59
3.5.2	Extracción de ADN .....	60
3.5.3	Análisis cualitativo de ADN mediante electroforesis de agarosa .....	60
3.5.4	Análisis cuantitativo de ADN mediante PicoGreen Assay .....	61
3.5.5	Caracterización mecánica.....	62
3.6	Generación del andamio fotosintético.....	63
3.6.1	Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido.....	65
3.6.2	Caracterización mediante microscopía de fluorescencia.....	66
3.6.3	Caracterización mediante la liberación de oxígeno .....	66
3.7	Prueba de biocompatibilidad mediante un modelo murino de lesión cutánea... 67	
	Preparación prequirúrgica.....	68
	Anestesia y preparación quirúrgica.....	68
	Inducción de la herida cutánea .....	69
	Colocación del andamio y sutura .....	69
	Diseño experimental .....	69
	<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>71</b>
<b>4.</b>	<b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>71</b>
4.1	Obtención y caracterización de matriz extracelular de la submucosa intestinal porcina.....	72
4.1.1	Recolección de la materia prima .....	72
4.1.2	Obtención de la submucosa intestinal .....	74
4.2	Descelularización .....	76
4.2.1	Esterilización del tejido.....	77
4.2.2	Extracción de ADN .....	78
4.2.3	Análisis cualitativo de ADN (Electroforesis) .....	78

4.2.4	Análisis cuantitativo de ADN (Picogreen) .....	79
4.2.5	Pruebas mecánicas .....	81
4.3	Generación del andamio fotosintético.....	83
4.3.1	Microscopía confocal de fluorescencia .....	84
4.3.2	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	86
4.3.3	Medición de oxígeno .....	87
4.4	Prueba de biocompatibilidad: Modelo murino .....	88
	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS .....	90
	CONCLUSIONES.....	96
	RECOMENDACIONES.....	98
	REFERENCIAS .....	99
	ANEXOS .....	109

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

FIGURA 1 ETAPAS DEL PROYECTO.....	6
FIGURA 2. ESTRUCTURA DE LA PIEL. (WANG ET AL., 2024).....	28
FIGURA 3: FASES DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN.....	31
FIGURA 4. COMPARACIÓN ENTRE LESIONES AGUDAS Y CRÓNICAS POR DFW WOUND CARE CENTER, 2024...	34
FIGURA 5. TRATAMIENTOS TRADICIONALES PARA LAS LESIONES CUTÁNEAS (LAURANO ET AL., 2022).....	36
FIGURA 6. TRACTO GASTROINTESTINAL DEL CERDO. MARITAN, M. (2025) BioRENDER.....	39
FIGURA 7. CAPAS DE LA PARED INTESTINAL (LAY ET AL., 2019).....	40
FIGURA 8. ESQUEMA DE LA COMPOSICIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR (HUSSEY ET AL., 2017).....	44
FIGURA 9. ESQUEMA DE LA OBTENCIÓN DEL TEJIDO INTESTINAL.....	54
FIGURA 10 DELAMINACIÓN DE LAS CAPAS INTESTINALES.....	55
FIGURA 11. ESQUEMA DEL PRIMER PROTOCOLO DE DESCELULARIZACIÓN.....	56
FIGURA 12. ESQUEMA DEL SEGUNDO PROTOCOLO DE DESCELULARIZACIÓN.....	57
FIGURA 13. ESQUEMA DEL TERCER PROTOCOLO DE DESCELULARIZACIÓN.....	58
FIGURA 14. ESQUEMA DEL CUARTO PROTOCOLO DE DESCELULARIZACIÓN.....	59
FIGURA 15. ESQUEMA DEL GEL DE AGAROSA.....	61
FIGURA 16. ESQUEMA DE LA GENERACIÓN DEL ANDAMIO FOTOSINTETICO.....	64
FIGURA 17. ESQUEMA PARA SEM.....	65
FIGURA 18. DIAGRAMA DEL PROCESO DE CUANTIFICACIÓN DE OXÍGENO DE LOS ANDAMIOS.....	67
FIGURA 19. ESQUEMA DEL PROCESO QUIRÚRGICO PARA LA APLICACIÓN DE LOS ANDAMIOS.....	70
FIGURA 20. CONDICIONES DE LUZ.....	70
FIGURA 21. MATADERO MUNICIPAL DE LA CHORRERA.....	73
FIGURA 22. INTESTINO DELGADO PORCINO SEPARADO.....	73
FIGURA 23. PROCESO DE DELAMINACIÓN DEL INTESTINO DELGADO.....	75
FIGURA 24. RESULTADO FINAL DEL PROCESO DE DELAMINACIÓN.....	76
FIGURA 25. CAMBIO COLORIMÉTRICO DE LA SUBMUCOSA INTESTINAL.....	77
FIGURA 26. ELECTROFORESIS DE AGAROSA.....	79
FIGURA 27. GRÁFICA PICOGREEN.....	81
FIGURA 28. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS MECÁNICAS.....	82
FIGURA 29. CRECIMIENTO GRADUAL DE LAS MICROALGAS EN EL LA SUBMUCOSA DESCELULARIZADA.....	84
FIGURA 30. MICROSCOPIA CONFOCAL DE FLUORESCENCIA.....	85
FIGURA 31. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	86
FIGURA 32. MEDICIÓN DE OXÍGENO.....	88
FIGURA 33. EVALUACIÓN IN VIVO DE LOS ANDAMIOS IMPLANTADOS EN MODELO MURINO.....	89

# **CAPÍTULO I**

---

## **1. EL PROBLEMA**

## **1.1 Antecedentes del problema de investigación**

Las heridas cutáneas crónicas, como las úlceras por presión, úlceras venosas y lesiones asociadas a la diabetes mellitus, constituyen un problema clínico de gran relevancia a nivel mundial debido a su difícil manejo y prolongado tiempo de cicatrización. Estas lesiones se caracterizan por presentar un microambiente desfavorable para la regeneración, donde confluyen factores como hipoxia tisular, inflamación persistente, deficiencia en la vascularización y presencia de tejido necrótico (Guo & DiPietro, 2010). Como consecuencia, se incrementa el riesgo de infecciones, se prolongan las estancias hospitalarias y se afecta significativamente la calidad de vida del paciente, además de implicar altos costos para los sistemas de salud (Sen et al., 2009).

Los tratamientos convencionales para este tipo de heridas incluyen curas húmedas, vendajes especializados, terapia de presión negativa, aplicación de factores de crecimiento y oxigenoterapia tópica o hiperbárica. Sin embargo, su efectividad suele verse limitada en el caso de heridas crónicas, debido a que el entorno hipóxico y el déficit vascular dificultan la llegada de nutrientes y oxígeno necesarios para la reparación tisular. A esto se suma que muchas terapias avanzadas tienen un alto costo y requieren múltiples intervenciones, lo que restringe su uso en determinados contextos hospitalarios.

En los últimos años, la bioingeniería de tejidos ha propuesto el uso de andamios biológicos derivados de matriz extracelular (ECM) descelularizada como alternativa terapéutica. Estos biomateriales, obtenidos mediante procesos fisicoquímicos que eliminan los componentes celulares preservando la arquitectura tridimensional y los

componentes estructurales como colágeno, elastina y proteoglicanos, han demostrado favorecer la adhesión, migración y proliferación celular, así como modular la respuesta inflamatoria local (Badylak, 2015). En particular, la submucosa del intestino delgado porcino ha sido ampliamente utilizada debido a su alta biocompatibilidad, disponibilidad y composición rica en proteínas bioactivas (Gilbert et al., 2006).

De forma paralela, han surgido innovaciones que exploran la incorporación de organismos fotosintéticos, como microalgas o cianobacterias, en biomateriales para generar oxígeno *in situ* en la zona lesionada. Estudios experimentales han evidenciado que las microalgas, bajo condiciones de iluminación, pueden liberar oxígeno de manera controlada, mejorando la oxigenación del tejido y potencialmente acelerando la cicatrización (Hopfner et al., 2014). Sin embargo, la integración de esta estrategia en andamios biológicos derivados de ECM aún es incipiente y requiere optimización en cuanto a viabilidad celular, estabilidad del biomaterial y seguridad en su aplicación clínica.

A partir de lo anterior, se identifica una brecha de conocimiento en el desarrollo de biomateriales fotosintéticos que combinen la capacidad estructural y bioactiva de la ECM porcina con la producción de oxígeno de las microalgas, específicamente orientados al tratamiento de heridas cutáneas crónicas. El presente estudio busca aportar evidencia experimental en este campo, explorando una estrategia que podría abrir nuevas posibilidades terapéuticas en el manejo de este tipo de lesiones

### 1.2 Planteamiento del problema

Las heridas cutáneas crónicas constituyen una de las principales causas de morbilidad a nivel mundial, afectando especialmente a personas con enfermedades de base como diabetes mellitus, insuficiencia venosa o lesiones por presión prolongada. Estas lesiones presentan una cicatrización lenta o ausente debido a un microambiente desfavorable, caracterizado por hipoxia tisular, inflamación persistente, presencia de biofilm bacteriano y pobre vascularización (Guo & DiPietro, 2010; Schreml et al., 2010). Se estima que afectan a entre el 1% y el 2% de la población en países desarrollados, con un impacto aún mayor en entornos de bajos recursos (Sen et al., 2009). El tratamiento actual de este tipo de heridas incluye el uso de vendajes especializados, terapia de presión negativa, oxigenoterapia y aplicación de factores de crecimiento. No obstante, estos métodos presentan importantes limitaciones, entre ellas su baja eficacia en tejidos con hipoxia severa, alto costo económico y necesidad de intervenciones repetidas (Schreml et al., 2010). Incluso terapias avanzadas como los sustitutos dérmicos o la terapia celular han mostrado resultados variables y no siempre sostenibles en el tiempo (Cheng et al., 2020). En este contexto, la bioingeniería de tejidos ha explorado el uso de andamios biológicos derivados de matriz extracelular (ECM) descelularizada, por su capacidad para proporcionar soporte estructural y señales bioquímicas que promueven la regeneración. Sin embargo, estas soluciones pasivas no resuelven por completo la hipoxia local, una de las principales barreras para la cicatrización (Badylak et al., 2015). Por ello, en años recientes ha surgido la propuesta de integrar organismos fotosintéticos —como microalgas— en

biomateriales, aprovechando su capacidad de liberar oxígeno en condiciones de iluminación (Hopfner et al., 2014). A pesar de los avances, existe una brecha de conocimiento en el desarrollo de biomateriales que combinen ECM descelularizada porcina con microalgas, evaluando su viabilidad, producción de oxígeno y potencial terapéutico en heridas crónicas. El presente trabajo busca dar respuesta a esta necesidad, proponiendo un biomaterial fotosintético capaz de aportar simultáneamente soporte estructural y oxigenación local, con miras a mejorar el proceso de cicatrización en este tipo de lesiones.

### **Pregunta de investigación**

¿Es posible desarrollar un biomaterial fotosintético a partir de tejido porcino descelularizado que presente adecuadas propiedades estructurales, bioquímicas y biocompatibles para favorecer la regeneración de heridas cutáneas crónicas?

### 1.3 Justificación de la investigación

El desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento de lesiones cutáneas crónicas representa una oportunidad significativa para mejorar la calidad de vida de los pacientes, alineándose con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en particular con el ODS 3: Salud y bienestar. Las enfermedades cutáneas crónicas, a menudo subestimadas, tienen un impacto silencioso pero profundo en la vida de quienes las padecen, contribuyendo a la carga de la comorbilidad al afectar la funcionalidad, la autonomía y el bienestar emocional de los pacientes. La búsqueda de soluciones innovadoras mediante el uso de biotecnologías activas y terapias avanzadas, como la incorporación de microalgas en biomateriales, abre nuevas posibilidades para mejorar los tratamientos convencionales, proporcionando entornos bioactivos que favorecen la regeneración tisular de manera más efectiva (Naciones Unidas, 2015).

El desarrollo de este tipo de biomateriales no solo responde a la necesidad de mejorar los tratamientos actuales, sino que también fomenta la investigación en torno a soluciones sostenibles y accesibles para un problema de salud pública creciente. La implementación de modelos murinos en la evaluación de estos biomateriales permite validar su seguridad y eficacia en condiciones controladas, proporcionando información crucial para su posterior escalamiento y aplicación clínica (Longar Blanco et al., 2023).

El uso de biomateriales derivados de tejidos descelularizados ha demostrado ser una estrategia prometedora en la medicina regenerativa, ya que preservan la arquitectura natural de la matriz extracelular (ECM) y proporcionan un entorno favorable para la adhesión y proliferación celular (Crapo et al., 2011). Al integrar microalgas en estas estructuras, se introduce una nueva dimensión bioactiva que puede mejorar la oxigenación local y favorecer procesos metabólicos esenciales para la regeneración tisular. Estudios previos han demostrado que las microalgas poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y promotoras de la cicatrización, lo que las convierte en un componente atractivo para biomateriales de nueva generación (Chu, 2012).

Además, la creciente demanda de tratamientos sostenibles y accesibles ha impulsado la investigación en biomateriales que puedan producirse a bajo costo y con una menor huella ambiental. Los andamios basados en submucosa intestinal descelularizada ofrecen ventajas significativas en términos de disponibilidad y biocompatibilidad, superando limitaciones de otros biomateriales sintéticos que requieren procesos de fabricación más complejos y costosos (Badylak, 2015). La introducción de microalgas en estos andamios podría representar una solución innovadora y sostenible para abordar el tratamiento de lesiones cutáneas crónicas, reduciendo la dependencia de terapias convencionales de alto costo y prolongada duración (Atala et al., 2012).

Finalmente, el impacto potencial de esta investigación va más allá del ámbito clínico, ya que la validación de estos biomateriales podría abrir nuevas líneas de estudio en ingeniería tisular y terapias avanzadas. La combinación de estrategias biotecnológicas con modelos de regeneración asistida por microalgas representa un enfoque innovador con implicaciones en diversas áreas de la medicina regenerativa y la biomedicina (Liu

et al., 2016). La presente investigación busca contribuir al desarrollo de alternativas terapéuticas más eficientes, sostenibles y adaptables a diferentes contextos clínicos, generando beneficios tanto para los pacientes como para los sistemas de salud (Colorado et al., 2013).

### 1.4.1 Objetivo General

Desarrollar un parche oxigénico, como tratamiento para lesión cutánea crónica a partir de microalgas y submucosa intestinal de porcino.

### 1.4.2 Objetivos Específicos

- I. Elaborar un andamio descelularizado a partir de submucosa intestinal de porcino y caracterizarlo fisicoquímica y estructuralmente.
- II. Generar un andamio oxigénico y caracterizarlo fisicoquímica y estructuralmente.
- III. Validar la biocompatibilidad del andamio oxigénico en un modelo murino con lesión cutánea.

### **Alcance de la investigación**

Este trabajo se enfoca en el desarrollo y caracterización de un biomaterial fotosintético elaborado a partir de matriz extracelular (ECM) descelularizada de origen porcino, funcionalizada con microalgas viables para la liberación de oxígeno *in situ*. La investigación contempla la obtención y descelularización de la submucosa del intestino delgado porcino mediante un protocolo fisicoquímico optimizado, así como la evaluación de la calidad de la descelularización mediante pruebas bioquímicas para cuantificar ADN, proteínas totales y colágeno. Posteriormente, se incorporarán microalgas fotosintéticas al andamio descelularizado, analizando su viabilidad dentro del biomaterial y su capacidad de producción de oxígeno bajo condiciones controladas de laboratorio. Finalmente, se llevarán a cabo pruebas de biocompatibilidad preliminares *in vivo* en un modelo murino para evaluar la respuesta tisular. Es importante señalar que esta investigación no contempla la aplicación clínica directa en humanos, sino que se centra en la fase experimental de laboratorio y pruebas preclínicas iniciales.

### **Limitaciones de la investigación**

Entre las limitaciones de este estudio se encuentra el hecho de que la evaluación *in vivo* se realizará exclusivamente en un modelo murino, lo que impide extrapolar los resultados de forma directa a la respuesta en humanos sin la realización de estudios adicionales. Las mediciones de producción de oxígeno y viabilidad de microalgas se llevarán a cabo en condiciones controladas de laboratorio, que pueden diferir

significativamente del microambiente real presente en una herida crónica. Asimismo, el tiempo de seguimiento en los ensayos *in vivo* será limitado, por lo que no se evaluará la respuesta a largo plazo ni la degradación completa del biomaterial. Otra limitación relevante es que se utilizará una única especie de microalga, lo que excluye el análisis comparativo con otras especies fotosintéticas potencialmente más eficientes.

## 1.6 Línea de investigación

---

### Línea de investigación

El estudio presentado pertenece a la línea de investigación en instrumentación biomédica, específicamente en el área de ingeniería de tejidos, biomateriales y biomecánica, el cual trata del desarrollo experimental de un apósito para el tratamiento de lesiones cutáneas mediante el uso de tejido descelularizado y microalgas.

# **CAPÍTULO II**

---

MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes de la investigación

En junio de 2019, Zhang, Xu, Chai, Zhang, Hu y Zhou realizaron un estudio para evaluar si un material hecho con la submucosa del intestino delgado de cerdo, modificado con nanopartículas de plata, podía ayudar a curar quemaduras infectadas por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*. Para probarlo, provocaron quemaduras controladas en ratas y aplicaron distintos tratamientos durante 14 días. Los resultados mostraron que el material con plata aceleró la curación, redujo la inflamación y favoreció la formación de nuevos vasos sanguíneos y piel, en comparación con otros tratamientos (Y. Zhang et al., 2019).

En 1995, Prevel, Eppley, Summerlin, Sidner, Jackson, McCarty y Badylak estudiaron el uso de esta misma capa intestinal de cerdo como “apósito biológico” para cubrir heridas profundas en ratas. Compararon su uso con un método tradicional y observaron que el material porcino no fue rechazado por el organismo y que ayudó a la cicatrización, con menos contracción de la herida que el método convencional. Esto indicó que podría ser una buena opción para cubrir heridas y como base para cultivar células (Prevel et al., 1995).

En 2017, Nherera, Romanelli, Trueman y Dini revisaron investigaciones sobre el uso de este material en el tratamiento de heridas crónicas y quemaduras. Analizaron 78 estudios y encontraron que, en general, este tipo de apósito puede mejorar la cicatrización y resultar más económico que otros tratamientos biológicos. No obstante,

señalaron que se necesitan más investigaciones para confirmar su utilidad en quemaduras (Nherera et al., 2017).

En 1998, Jason Clark, en la Universidad Georgia Southern, exploró cómo interactuaban las células madre embrionarias humanas con este material. Clark cultivó estas células sobre submucosa intestinal de cerdo y observó que el material podía estimularlas para convertirse en células similares a las que forman vasos sanguíneos. Esto sugiere que podría emplearse para crear tejidos artificiales con aplicaciones médicas (Clark, 1998).

En 2004, Yang He, en la Universidad Estatal de Florida, investigó el uso de este material para crear un modelo de tumor y un injerto de vaso sanguíneo. Logró que células de cáncer de mama humano crecieran sobre el material y que células de vasos sanguíneos se desarrollaran mejor cuando se les agregaban factores de crecimiento. Sin embargo, también observó que, para que el modelo fuera más realista, se necesitaría un sistema que aportara nutrientes de forma constante (He, 2004).

## **2.2 Bases teóricas que sustentan la investigación**

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano y cubre toda su superficie, con un peso aproximado de 4 a 5 kg y un espesor que varía entre 0.5 mm en zonas delgadas, como los párpados, y hasta 4 mm en áreas más gruesas, como las palmas y plantas. Su principal función es actuar como una barrera protectora frente a factores externos como microorganismos, radiación solar, productos químicos y variaciones de temperatura. Además, participa en la regulación térmica, la percepción sensorial y el equilibrio de líquidos y electrolitos (Madison, 2003).

La piel está compuesta por tres compartimentos principales: epidermis, dermis e hipodermis, y cada uno contiene tipos celulares distintos (Figura 1).

## **Epidermis**

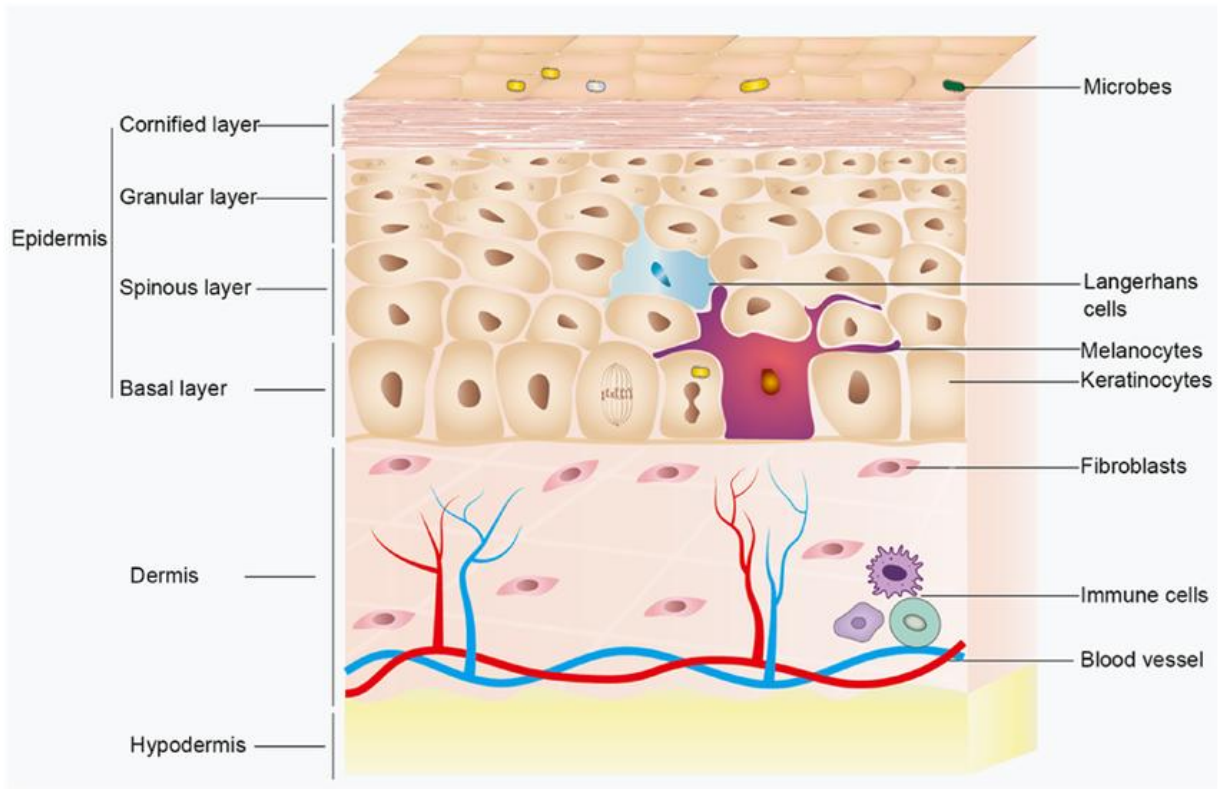
La epidermis está formada principalmente por queratinocitos y puede subdividirse en múltiples capas: basal, espinosa, granulosa y córnea. La capa basal contiene principalmente células madre o progenitoras, que se apoyan en una membrana basal y generan de manera continua células más diferenciadas hacia las capas externas (Simpson et al., 2011). La homeostasis epidérmica depende de la regulación de la proliferación y diferenciación de las células de la capa basal. A través de un proceso de diferenciación denominado queratinización o cornificación, las células basales se desplazan hacia la superficie de la piel, convirtiéndose en las capas espinosa y granulosa, y finalmente forman las células muertas más externas del estrato córneo. El estrato córneo proporciona la función de barrera primaria entre el cuerpo y el entorno externo, protegiendo contra la deshidratación, los patógenos y las agresiones ambientales (Eckhart et al., 2013). Además, la epidermis contiene melanocitos, que producen el pigmento melanina, y células inmunitarias como las células de Langerhans, que contribuyen a la vigilancia inmunitaria de la piel (Kobayashi et al., 2019).

## **Dermis e Hipodermis**

La dermis, situada por debajo de la epidermis, es un tejido conectivo especializado que proporciona soporte estructural, elasticidad y resistencia a la piel. El tejido dérmico es rico en matriz extracelular (ECM), la cual es producida en gran medida por los

fibroblastos dérmicos (Nyström & Bruckner-Tuderman, 2019). Además, la dermis alberga vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios y diversos anexos cutáneos, como los folículos pilosos, las glándulas sebáceas y las glándulas sudoríparas. Debajo de la dermis se encuentra el tejido adiposo, también conocido como hipodermis, que desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis cutánea al mediar en diversos procesos como las respuestas inmunitarias, el ciclo del folículo piloso y la cicatrización de heridas (Guerrero-Juarez & Plikus, 2018).

La piel es una barrera altamente dinámica y en constante autorrenovación que enfrenta ambientes adversos a lo largo de su vida. La homeostasis cutánea requiere complejas comunicaciones celulares entre los distintos tipos de células de la epidermis y la dermis, mediante diversos mediadores, incluidos citocinas, factores de crecimiento e interacciones con la ECM. Además, la piel es un ecosistema dinámico que alberga tanto microbios patógenos como comensales. Estos microorganismos participan en una comunicación continua entre sí y con el sistema inmunitario del huésped (Chinnappan & Harris-Tryon, 2021).



*Figura 2. Estructura de la piel. (Wang et al., 2024)*

En el contexto de la cicatrización y reparación de heridas, la estructura de la piel desempeña un papel fundamental. La epidermis actúa como una barrera inicial frente a infecciones, la dermis provee nutrientes y factores de crecimiento necesarios para la regeneración, y la hipodermis contribuye a mantener la integridad del tejido durante el proceso de reparación (Shpichka et al., 2019).

### **2.2.1 Lesiones cutáneas**

Las heridas pueden originarse por múltiples factores, como intervenciones quirúrgicas, traumatismos, causas externas (presión, quemaduras, cortes), o por enfermedades subyacentes, entre ellas diabetes y patologías vasculares. Según su origen y evolución, se clasifican en agudas o crónicas. Las heridas agudas suelen seguir un proceso de reparación ordenado y eficiente, logrando la recuperación estable de la

estructura y función de los tejidos (Karimi et al., 2017). En cambio, las crónicas no logran una restauración anatómica y funcional óptima, debido a que su evolución está condicionada por la naturaleza de la patología de base, la magnitud del daño, las características del paciente y el entorno (Lazarus et al., 1994).

Aspectos sistémicos como la edad, enfermedades vasculares, trastornos metabólicos o autoinmunes, así como el uso de determinados fármacos, pueden influir de manera significativa en la cicatrización. Se considera que una herida cicatrizada de forma ideal recupera completamente la estructura, función y apariencia originales del tejido afectado. En contraste, una cicatrización mínima restaura la continuidad anatómica, pero sin una funcionalidad duradera, lo que favorece la recurrencia de la lesión. Entre estos extremos, una cicatrización aceptable implica una recuperación anatómica y funcional estable. La valoración de la extensión de las heridas puede realizarse mediante técnicas no invasivas—como la medición de perímetro, longitud, anchura, superficie, volumen, profundidad y viabilidad del tejido— o invasivas, que cuantifican el daño desde la superficie hasta los planos más profundos.

Adicionalmente, es posible describirlas según parámetros como el flujo sanguíneo, la oxigenación, la presencia de infección, inflamación, edema, traumatismos recurrentes, estado de la inervación, metabolismo local, nutrición, antecedentes de tratamiento y factores sistémicos. Estos indicadores ayudan a identificar la causa, la fisiopatología y el estado general de la lesión. La evaluación debe considerar siempre el impacto de la herida sobre el paciente, ya que su estado de salud general influye en la respuesta cicatricial. Este seguimiento resulta complejo, dado que la cicatrización es un proceso

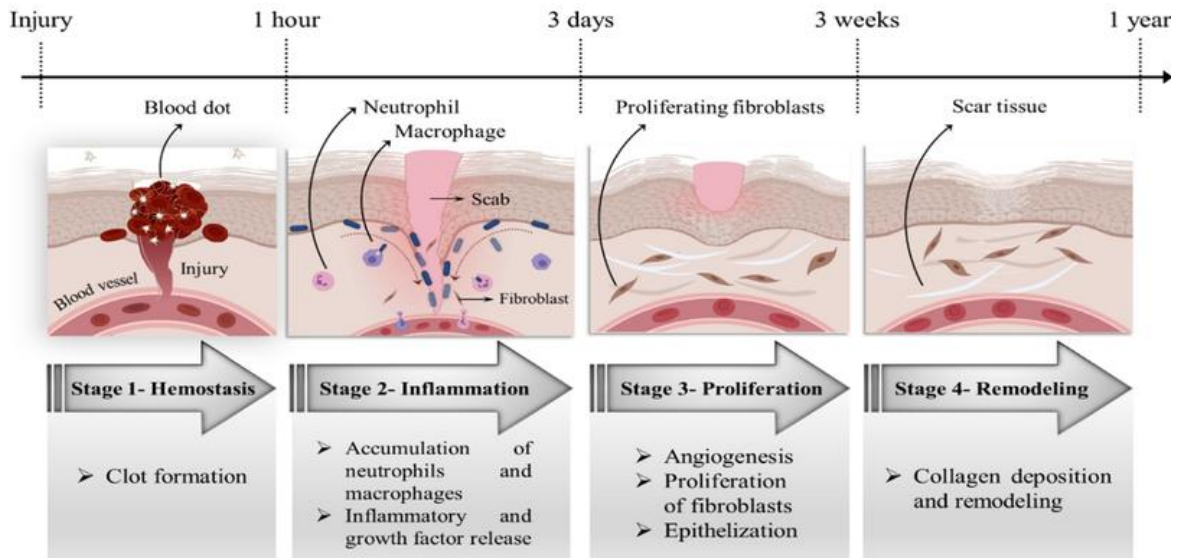
dinámico que requiere una observación periódica, metódica y continua, valorando la extensión, tipo y gravedad de la lesión a lo largo del tiempo (WILLIAMS et al., 1950).

Las heridas crónicas pueden deteriorar notablemente la calidad de vida, aumentar los costos sanitarios y prolongar la hospitalización, además de asociarse con mayores tasas de morbilidad y mortalidad. Debido a estas implicaciones, han sido descritas como una “epidemia silenciosa” (Ward et al., 2019). La mayor carga económica proviene de la contratación de personal especializado, el tiempo de hospitalización y el coste de insumos y tratamientos. Por ello, el desarrollo de innovaciones tecnológicas que aceleren y optimicen el proceso de cicatrización representa un desafío prioritario en el ámbito de la salud (Frykberg & Banks, 2015).

### **2.2.2 Proceso de cicatrización**

Las células de la piel están en constante renovación: las células muertas se eliminan en la capa más externa llamada estrato córneo, mientras que, en la capa basal, más profunda, se generan nuevas células a partir de células madre que se multiplican y se transforman. La velocidad con la que se renuevan estas células depende de varios factores, como heridas, hormonas, el estado de la piel y la salud general de la persona. Sin embargo, el proceso de regeneración de la piel después de una herida es más lento en especies más evolucionadas (Bielefeld et al., 2013). Este proceso tiene varias etapas que se activan a través de señales químicas dentro y entre las células, y que trabajan juntas para reparar la piel y mantener su equilibrio natural. También participan procesos como la coagulación de la sangre y la inflamación. Muchas células están involucradas, como los fibroblastos, queratinocitos y células que forman los vasos sanguíneos, así como células del sistema inmunológico como neutrófilos, monocitos,

macrófagos, linfocitos y células dendríticas (Enoch & Leaper, 2008). En la Figura 2 se puede ver un esquema del proceso de cicatrización.



*Figura 3: Fases del proceso de cicatrización*

*(Akhtari et al., 2024)*

El proceso de regeneración ocurre en fases consecutivas que están controladas por la expresión génica, a través de mecanismos autocrinos o paracrinos como se puede observar en la Figura 2. La finalización de las actividades activas se logra mediante el silenciamiento génico a lo largo del desarrollo de la regeneración (Erickson & Echeverri, 2018). La cicatrización de heridas es uno de los procesos más complejos del cuerpo humano, ya que requiere una sincronización tanto espacial como temporal entre la fase inflamatoria, la regeneración tisular y el remodelado.

La fase inflamatoria se activa tras la lesión y comprende la cascada de coagulación, la vía inflamatoria y la participación del sistema inmunológico (Gethin, 2012). Estos eventos tienen como objetivo evitar una pérdida excesiva de sangre y líquidos, prevenir infecciones y facilitar la eliminación de tejidos muertos o dañados. La hemostasia se

consigue mediante la formación del coágulo plaquetario, seguido por la generación de una matriz de fibrina que sirve como andamiaje para la infiltración celular. Como resultado de la desgranulación plaquetaria, la liberación de señales quimiotácticas provenientes de tejidos necróticos y productos bacterianos activa el sistema complementario y provoca la llegada de neutrófilos a la lesión (Velnar et al., 2009). Finalmente, los macrófagos coordinan todas las respuestas al daño, encargándose de la fagocitosis de fibrina y restos celulares, además de secretar factores de crecimiento derivados de macrófagos (MDGF) que actúan sobre fibroblastos y células endoteliales (H. S. Kim et al., 2019). La formación de nuevo tejido comienza entre dos y diez días después de la lesión, involucrando proliferación celular y migración de diversos tipos celulares. Cuando la lesión afecta la dermis, se forma un tejido conectivo granulado, poco diferenciado y altamente vascularizado, compuesto por elementos celulares y fibrilares integrados en una matriz aparentemente amorfa. Las células principales de este tejido son: (i) fibroblastos, encargados de sintetizar la parte fibrilar; (ii) miofibroblastos, que participan en la contracción de la herida; y (iii) células endoteliales, responsables de la neoangiogénesis (Alhajj et al., 2020).

El proceso de reepitelización se inicia en esta fase y se caracteriza por la proliferación y migración de queratinocitos hacia el centro de la lesión, a medida que el espacio entre el fondo y los bordes de la herida se llena con tejido de granulación. Este tejido actúa como matriz en la que los queratinocitos, ubicados en los bordes de la lesión, migran y proliferan (H. S. Kim et al., 2019). La organización estructural de la reepitelización cutánea puede explicarse mediante dos modelos: el deslizante y el rodante. Según el modelo deslizante, los queratinocitos de la capa basal modifican sus

uniones de anclaje, lo que permite su desprendimiento y migración lateral hacia el centro de la lesión. En cambio, el modelo rodante plantea que los queratinocitos experimentan una transformación morfológica y funcional, junto con los desmosomas, lo que provoca que rueden hacia los queratinocitos basales, los cuales permanecen anclados a la membrana basal (Usui et al., 2005). La regeneración de la capa basal conduce a la proliferación y diferenciación vertical de los queratinocitos, restaurando así las características normales del epitelio estratificado.

La fase de remodelado comienza aproximadamente tres semanas después de la lesión y puede durar más de un año. Durante este periodo, se silencian todos los procesos activados en las fases anteriores y los macrófagos, las células endoteliales aisladas y los miofibroblastos entran en apoptosis o son desplazados desde la herida, dejando una zona rica en colágeno y otras proteínas de la matriz extracelular (ECM). Las interacciones entre epidermis y dermis, junto con mecanismos adicionales de retroalimentación, permiten la regulación continua de la integridad y homeostasis cutánea. El colágeno tipo III, presente en la ECM, es reemplazado progresivamente en un periodo de 6 a 12 meses (Enoch & Leaper, 2008).

### **2.2.3 Cicatrización de heridas agudas y crónicas**

Las heridas agudas (como las traumáticas o quirúrgicas) atraviesan las etapas normales del proceso de cicatrización, lo que resulta en una reparación tisular organizada y predecible (Lindholm & Searle, 2016). En contraste, las heridas crónicas presentan un proceso de reparación desordenado y se clasifican principalmente en úlceras vasculares (venosas y arteriales), úlceras diabéticas y úlceras por presión (Mustoe, 2004). Las heridas crónicas mantienen una fase inflamatoria persistente, que

favorece la acumulación de microorganismos, la formación de biopelículas (Wu et al., 2019), y la liberación de factores derivados de plaquetas, como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) o fragmentos de moléculas de la ECM.

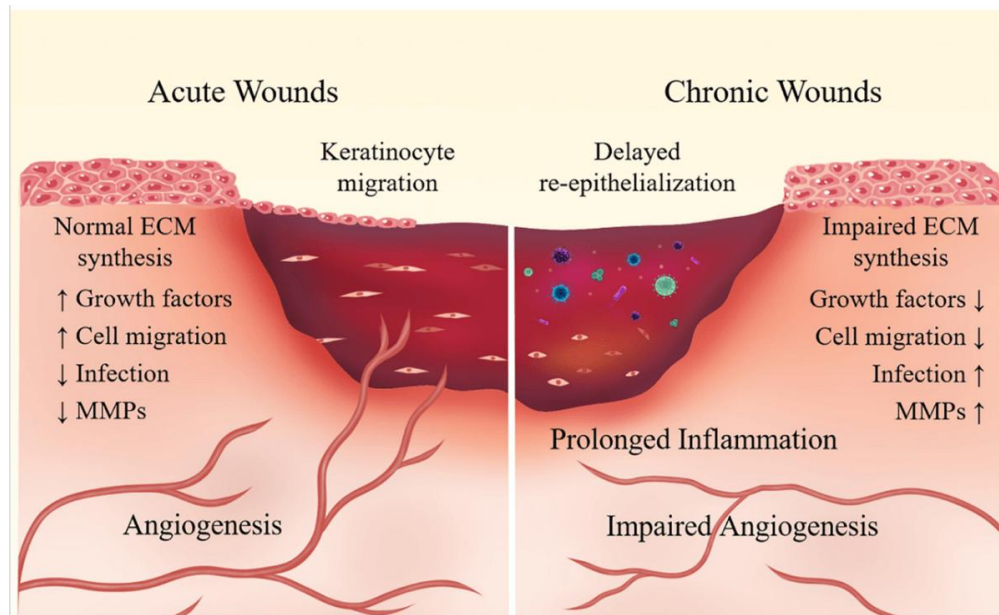


Figura 4. Comparación entre lesiones agudas y crónicas por DFW Wound Care

Center, 2024

La cascada de citocinas proinflamatorias, incluyendo interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), se prolonga, elevando los niveles de proteasas en la base de la herida. En heridas crónicas, la cantidad de proteasas supera la de sus inhibidores, lo que provoca la destrucción de la ECM y perpetúa las fases proliferativa e inflamatoria (McCarty & Percival, 2013). Las células inflamatorias acumuladas aumentan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), causando daño a las proteínas de la ECM y una senescencia celular prematura (Ben-Porath & Weinberg, 2005). Además, las lesiones crónicas presentan alteraciones fenotípicas en células y dermis, como una menor densidad de receptores de factores de crecimiento y una

disminución del potencial mitogénico, dificultando la respuesta adecuada a las señales de cicatrización (Loots et al., 1998). Por el contrario, en las heridas agudas, las proteasas están estrictamente reguladas por sus inhibidores, evitando la destrucción de la ECM y favoreciendo la fase proliferativa.

#### **2.2.4 Terapias actuales para las lesiones cutáneas**

Las terapias modernas para el tratamiento de lesiones crónicas incluyen una amplia gama de apósitos y biomateriales creados para impulsar la cicatrización, controlar la humedad, prevenir infecciones y mitigar el dolor. Los más comunes son los apósitos de gas convencionales, los apósitos hidrocoloides, las espumas de poliuretano, las hidrofibras, los apósitos de plata y los apósitos biológicos. La elección del tratamiento se fundamenta en el tipo de lesión, el volumen de exudado, la presencia de infección y las condiciones del paciente.

Las gasas tradicionales continúan siendo una alternativa muy empleada debido a su coste reducido y accesibilidad. No obstante, su habilidad para preservar un entorno húmedo es restringida, lo que podría postergar la cicatrización. Además, la alteración constante de gasas puede provocar dolor y traumatizar el tejido recién creado (World Union of Wound Healing Societies (WUWHS), 2007). Los apósitos hidrocoloides se componen de elementos como la carboximetilcelulosa, que generan un gel al interactuar con el exudado, ofreciendo un entorno húmedo propicio para la cicatrización. Son particularmente beneficiosos en lesiones con exudado de moderado a leve y promueven la autólisis del tejido necrótico. Sin embargo, tienen restricciones como el peligro de que se macere la piel alrededor,

problemas para su aplicación en lesiones infectadas y la posibilidad de un mal olor (Thomas, 2008).



Figura 5. Tratamientos tradicionales para las lesiones cutáneas (Laurano et al., 2022)

Las espumas de poliuretano son muy absorbentes y ofrecen una excelente regulación del exudado, disminuyendo la frecuencia de las alteraciones y reduciendo el dolor. Además, resguardan frente a la fricción y los traumas externos. No obstante, su precio supera al de los hidrocoloides. (Hargis et al., 2024).

Las hidrofibras, como las hechas de carboximetilcelulosa sódica, ofrecen una gran capacidad de absorción y se gelifican al contacto con el exudado, adaptándose al lecho de la herida y reduciendo el riesgo de espacios muertos. A pesar de sus ventajas, no son recomendadas para heridas secas y su alto costo puede limitar su uso en ciertos entornos (Abuzakuk et al., 2006).

Los apósitos de plata tienen características antimicrobianas de amplio espectro, lo cual los convierte en útiles en lesiones con alto riesgo de infección o con indicios de colonización bacteriana. No obstante, su administración extendida puede postergar la cicatrización debido a su toxicidad en fibroblastos y queratinocitos, sumado a su alto costo. (Leaper, 2006).

### **2.2.5 Andamios biológicos**

Otro tipo de terapia son los andamios biológicos, como los compuestos por colágeno o matrices extracelulares derivadas de tejidos animales. Estos andamios buscan imitar la estructura y función de la piel para favorecer la regeneración tisular (Norahan et al., 2023). También cumplen una doble función: por un lado, ofrecen protección mecánica al evitar la desecación de la herida, disminuir la pérdida de líquidos y calor, y resguardar el lecho de granulación frente a contaminantes externos; por otro lado, ejercen un efecto fisiológico positivo al modular la proliferación bacteriana y facilitar la maduración ordenada del tejido de granulación. Entre los materiales más empleados se encuentran los aloinjertos cutáneos, considerados el estándar de referencia por su alta capacidad de adherencia, reducción del dolor y promoción de la angiogénesis en el lecho de la herida. Asimismo, otros tejidos como la membrana amniótica han demostrado inducir efectos angiogénicos, mientras que los xenoinjertos porcinos han sido utilizados como alternativa accesible, aunque con menor eficacia en términos de control bacteriano y unión vascular (Pruitt & Levine, 1984).

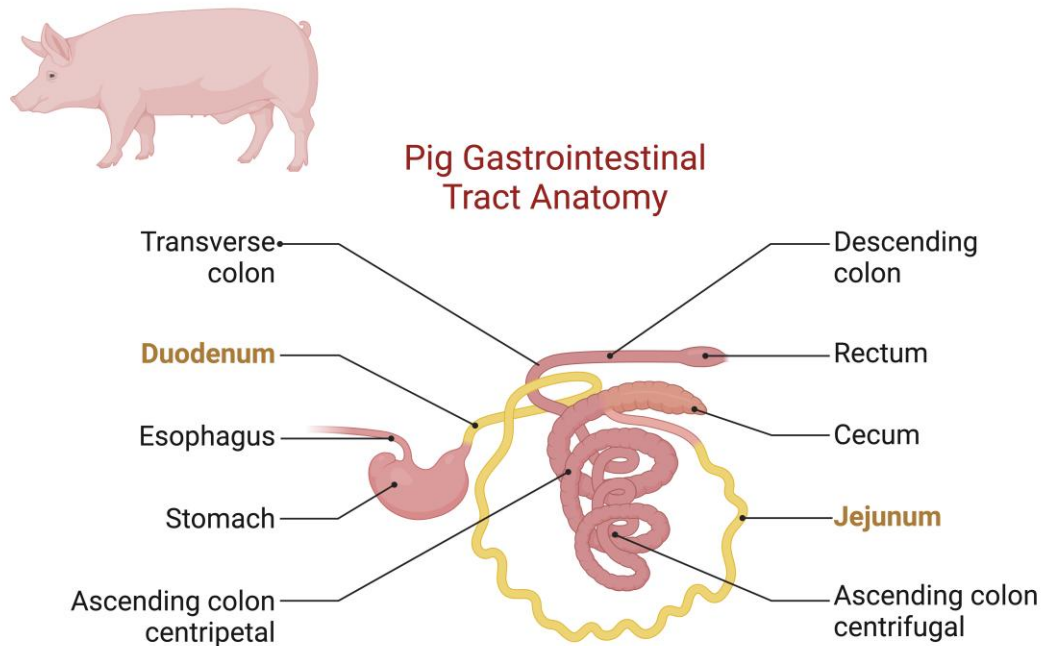
### **2.2.6 Matriz extracelular descelularizada, de intestino de porcino.**

El cerdo (*Sus scrofa domestica*) ha adquirido una importancia significativa como modelo animal en la investigación biomédica debido a su notable similitud anatómica, fisiológica y genética con el ser humano. Su sistema digestivo monogástrico, su dieta omnívora y su tamaño corporal lo convierten en un modelo idóneo para estudios que buscan una mayor correlación con los procesos fisiológicos humanos en comparación con los modelos murinos tradicionales (Dawson et al., 2017). Además, el desarrollo y

la maduración de su sistema gastrointestinal son comparables a los del neonato humano, presentando patrones semejantes en la actividad de enzimas digestivas como la lactasa, maltasa y sucrasa a lo largo del duodeno, yeyuno e íleon (Kelly et al., 1991).

Asimismo, el microbioma intestinal porcino comparte características estructurales y funcionales con el humano, lo que ha permitido utilizarlo como modelo en estudios de salud intestinal, metabolismo, enfermedades inflamatorias y respuesta inmunológica (Heinritz et al., 2013). Gracias a estas similitudes, el cerdo se ha consolidado como un organismo experimental clave en investigaciones de fisiología digestiva, farmacocinética, inmunología y desarrollo de biomateriales con aplicación clínica. En los últimos años, además, la disponibilidad de herramientas biotecnológicas como organoides intestinales, modelos transgénicos y matrices extracelulares derivadas de tejido porcino ha fortalecido su valor translacional (Prather et al., 2013).

El intestino delgado del cerdo está compuesto por tres segmentos principales: el duodeno, el yeyuno y el íleon. Cada uno cumple funciones específicas dentro del proceso de digestión y absorción de nutrientes. El yeyuno, localizado entre el duodeno y el íleon, representa la porción más activa en la absorción de carbohidratos, lípidos y aminoácidos. Su mucosa presenta vellosidades largas y bien desarrolladas, junto con una alta densidad de criptas intestinales, lo que le confiere una gran superficie de absorción y una intensa actividad metabólica (Moughan et al., 1992).

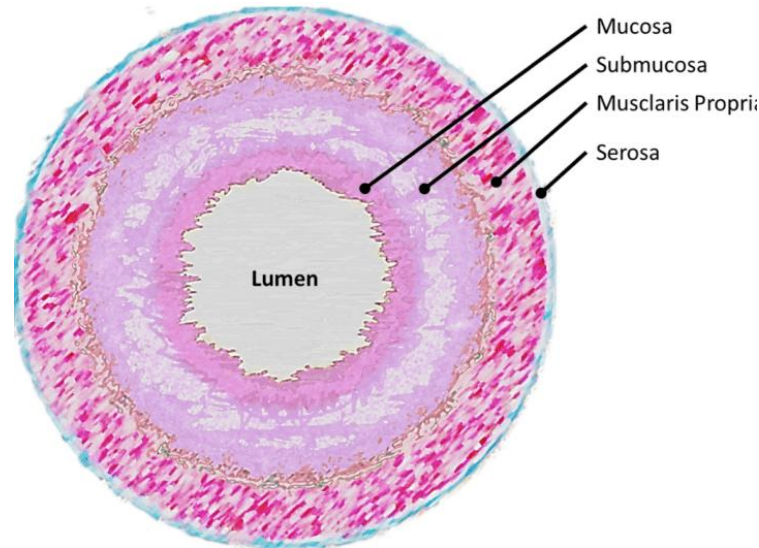


*Figura 6. Tracto gastrointestinal del cerdo. Maritan, M. (2025) BioRender*

Estudios fisiológicos han demostrado que las actividades de las enzimas digestivas, especialmente la maltasa y la sucrasa, alcanzan sus niveles más elevados en el yeyuno, evidenciando su papel fundamental en la maduración funcional del intestino delgado (Kelly et al., 1991). Por estas características, el yeyuno es frecuentemente elegido como fuente de tejido para la obtención de organoides intestinales y para estudios histológicos y bioquímicos, dado que su estructura favorece la regeneración epitelial y proporciona una morfología representativa del intestino delgado (Sato et al., 2011).

En cuanto a su estructura histológica, la pared intestinal del cerdo está compuesta por cuatro capas: mucosa, submucosa, muscular y serosa. La submucosa, situada entre la mucosa y la capa muscular, es una región rica en tejido conectivo laxo compuesto principalmente por colágeno, elastina, vasos sanguíneos, linfáticos y fibras nerviosas

del plexo submucoso (Ross et al., 2015). Esta capa proporciona soporte estructural a la mucosa y permite el intercambio de nutrientes y señales entre las capas más internas del intestino.



*Figura 7. Capas de la pared intestinal (Lay et al., 2019).*

Desde el punto de vista biomédico, la submucosa del intestino delgado porcino (conocida como *Small Intestinal Submucosa*, SIS) ha adquirido un papel central como fuente de biomateriales para ingeniería de tejidos. Su composición rica en matriz extracelular —particularmente colágeno tipo I, glicosaminoglicanos y factores de crecimiento residuales— le confiere propiedades bioactivas que favorecen la regeneración y la integración celular cuando es utilizada como andamio biológico (Badylak et al., 1998). Además, la SIS presenta una arquitectura tridimensional porosa y una excelente biocompatibilidad, lo que ha permitido su aplicación en la reparación de tejidos blandos, regeneración cutánea, vascularización y como recubrimiento o parche biológico en heridas y órganos (Hodde et al., 1996).

### **2.2.7 Matriz Extracelular descelularizada, una alternativa en Biomedicina**

Las matrices extracelulares (ECM) son redes arquitectónicas tridimensionales multiplicadas y bien organizadas con funciones estructurales y funcionales relevantes en la organización y renovación de tejidos (Karamanos et al., 2021). Las ECM no solo proporcionan estructuras o andamios físicos para el acoplamiento de las células, sino que también regulan muchos procesos celulares gracias a su función como medio de comunicación, ejercen diversas funciones celulares cruciales a través de interacciones célula-célula y célula-matriz (Manou et al., 2019; A. D. Theocharis & Karamanos, 2019).

### **2.2.8 Composición y función de la matriz extracelular**

Los elementos fundamentales de estas ultraestructuras incluyen los colágenos, los proteoglicanos (PG) y los glicosaminoglicanos (GAG), la elastina y fibras elásticas, lamininas, la fibronectina, y otras proteínas y glicoproteínas como las proteínas matricelulares (A. D. Theocharis et al., 2014, 2016).

Los componentes de la matriz extracelular se encuentran organizados en una estructura 3D, el cual se divide en dos partes principales, la membrana basal y la matriz intersticial. A pesar de sus diferencias, poseen una estructura básica similar. Están formados por distintos tipos de colágenos el cual forma el armazón de ambas y las proteínas no estructurales se unen a este andamiaje, comunicándose con las células circundantes a través de integrinas (Bosman & Stamenkovic, 2003).

Colágeno tipo IV, lamininas y la fibronectina (confiere al tejido superpuesto cierta resistencia a la tracción) son unos de los principales elementos que constituyen la membrana basal esta última confiere al tejido suprayacente cierta resistencia a la

tracción. En cuanto a las características, es mucho más densa y baja en porosidad comparada con la matriz intersticial (Lu et al., 2012). El perlecano, que es un proteoglicano de heparán sulfato (HSPG) relevante en la membrana basal, se vincula con el FGF y el VEGF, ejerciendo influencia en los procesos angiogénicos. Así, la membrana basal está presente tanto en los vasos sanguíneos como en los tejidos epitelial y endotelial, constituyendo una matriz altamente estructurada donde el epitelio se apoya en la membrana basal para cumplir con su función prevista (S. H. Kim et al., 2011).

En los lugares donde se encuentra la membrana basal está la matriz intersticial, los principales componentes de esta matriz son los colágenos, la elastina y la fibronectina, que crean un gel amorfo tridimensional. Aunque la mayoría de las proteínas fibrosas de la matriz son colágenos, es la fibronectina la encargada de establecer la estructura de esta. Cada tejido del cuerpo posee su propia distintiva matriz extracelular, que varía tanto en su composición como en sus propiedades topográficas (Frantz et al., 2010).

En la actualidad, se admite que la matriz extracelular es un ambiente dinámico, que sufre modificaciones continuas en su composición y estructura. Esto sucede como reacción a las acciones de las células adyacentes. Por lo tanto, es crucial entender cómo la comunicación entre las células y la MEC aprenden a ajustarse mutuamente.

Las matrices extracelulares actúan como canales de comunicación entre las células de órganos y tejidos, facilitando la coordinación de diversas señales que se transmiten tanto desde el interior hacia el exterior como en la dirección contraria. (A. Theocharis et al., 2012). Como resultado, las matrices extracelulares dirigen la morfogénesis, el

desarrollo y la homeostasis de los tejidos al regular la fisiología celular, el crecimiento, la supervivencia, la diferenciación y la adhesión de las células (Frantz et al., 2010b).

### **2.2.9 Composición específica de la matriz extracelular de la submucosa intestinal**

Al igual que la matriz extracelular dérmica, la submucosa del intestino delgado se compone principalmente de fibras de colágeno tipo I, pero también contiene cantidades menores de elastina y colágeno tipos III, IV y VI (McPherson & Badylak, 1998). Se han identificado en la submucosa intestinal delgada glucoproteínas multidominio como la fibronectina y la laminina (Lindberg & Badylak, 2001), que median la adhesión celular a la matriz extracelular. Además, el SIS contiene glicosaminoglicanos y proteoglicanos (Hurst & Bonner, 2001) que proporcionan sitios de fijación celular y de unión de factores de crecimiento, secuestran enzimas que degradan la matriz y mejoran la infiltración celular en el tejido lesionado (Hodde et al., 1996). También se ha informado que el SIS libera factores de crecimiento, incluido el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-

2), el factor de crecimiento transformante beta1 (TGF- $\beta$ 1) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)(Voytik-Harbin et al., 1997).

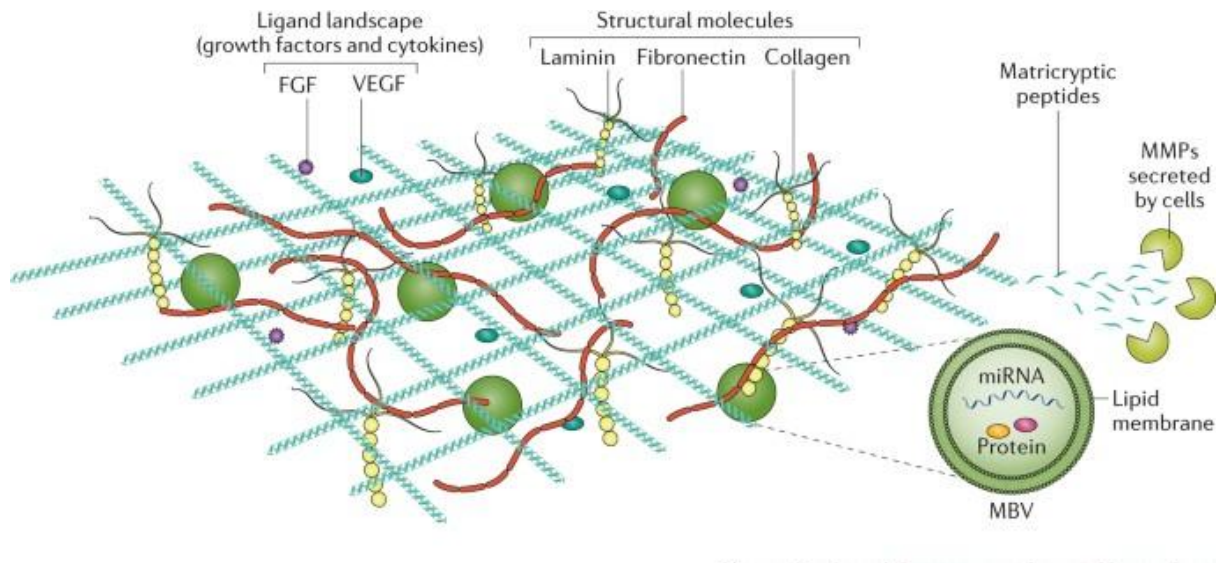


Figura 8. Esquema de la composición de la matriz extracelular (Hussey et al., 2017).

### 2.2.10 Matriz extracelular descelularizada, como andamio en ingeniería tisular en lesiones de la piel.

La matriz extracelular (MEC) desempeña un papel central en el proceso de cicatrización, actuando como un andamio biológico que regula la organización y regeneración del tejido lesionado (Schultz & Wysocki, 2009). En una herida, la MEC no solo provee soporte estructural para las células, sino que también funciona como un reservorio dinámico de señales bioquímicas que coordinan la migración, proliferación y diferenciación celular.

Durante la fase inflamatoria, los componentes de la MEC, como el colágeno, la fibronectina y los proteoglicanos, interactúan con receptores celulares (principalmente integrinas) facilitando la adhesión de fibroblastos, macrófagos y células endoteliales al sitio de la lesión. Posteriormente, en la fase proliferativa, la MEC regula la angiogénesis al servir de guía para el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos y estimular la formación de tejido de granulación (Gurtner et al., 2008).

En esta etapa, las fibras de colágeno tipo III son depositadas de manera desorganizada, otorgando soporte inicial a la herida. Finalmente, durante la fase de remodelación, la MEC sufre un proceso de maduración en el cual el colágeno tipo III es reemplazado progresivamente por colágeno tipo I, confiriendo mayor resistencia mecánica al tejido reparado. Además, las metaloproteinasas de matriz (MMPs) regulan la degradación controlada de la MEC, lo que permite un equilibrio entre síntesis y degradación, evitando fibrosis excesiva (Xue & Jackson, 2015).

En el contexto de lesiones cutáneas agudas y crónicas, las dECM pueden actuar como andamios biológicos que facilitan la re-epitelización y la angiogénesis, además de modular la respuesta inflamatoria local. Estos biomateriales proporcionan un microambiente bioactivo que promueve la diferenciación de fibroblastos y queratinocitos, acelerando el proceso de cicatrización (Q. Zhang et al., 2016).

Además, las dECM derivadas de tejidos como la dermis, submucosa intestinal, vejiga urinaria o membrana amniótica han demostrado resultados clínicos favorables. Por ejemplo, las dECM de submucosa del intestino delgado porcino (SIS-ECM) son ampliamente utilizadas en apósitos y parches para quemaduras y úlceras por su biocompatibilidad y capacidad de integración con el tejido receptor (Badylak et al.,

2015). Este tipo de matriz no solo sirve como soporte estructural, sino que también estimula la regeneración tisular mediante la liberación de péptidos bioactivos tras su degradación (Freytes et al., 2008).

De manera general, las dECM ofrecen ventajas significativas frente a los materiales sintéticos, como menor respuesta inmunológica, degradación controlada, y preservación de la arquitectura tridimensional del tejido, lo que las convierte en una herramienta clave en ingeniería de tejidos cutáneos y medicina regenerativa (Gilpin & Yang, 2017).

### **2.3 Glosario de términos**

- 1. Angiogénesis:** Es el proceso mediante el cual se forman nuevos vasos sanguíneos a partir de los vasos ya existentes. Esto ocurre tanto en tejidos normales (por ejemplo durante el desarrollo o la cicatrización) como en condiciones patológicas (por ejemplo tumores) (Sedighi et al., 2023).
- 2. Biocompatibilidad:** Capacidad de un material para interactuar con tejidos vivos sin causar efectos tóxicos o inmunes adversos, manteniendo su funcionalidad en aplicaciones médicas (Williams, 2009).
- 3. Biomaterial:** Material diseñado para interactuar con sistemas biológicos con el fin de tratar, reemplazar, o mejorar tejidos u órganos. Los biomateriales pueden ser naturales o sintéticos y se usan en dispositivos médicos o terapias (Wagner et al., 2020).
- 4. Cicatrización:** Proceso biológico de reparación de tejidos dañados, que incluye inflamación, proliferación celular y remodelación tisular, para restaurar la integridad funcional y estructural del tejido (Wynn & Vannella, 2016).

5. **Descelularización:** La descelularización se define como la eliminación de ADN y otros materiales celulares mientras se preserva la configuración y composición de la matriz extracelular (Kasravi et al., 2023).
6. **Factor de Crecimiento:** Son proteínas (o glicoproteínas) que actúan como señales para las células, regulando funciones como proliferación, migración, diferenciación o supervivencia. En ingeniería de tejidos y biomateriales, los factores de crecimiento promueven la regeneración y reparación del tejido (Mitchell et al., 2016).
7. **Fotosíntesis:** Es el proceso por el cual organismos que contienen clorofila (como plantas, algas, microalgas) captan la energía de la luz para convertir agua y dióxido de carbono en oxígeno y compuestos orgánicos (azúcares), que sirven como fuente de energía y carbono para el organismo (Cazzaniga & Ballottari, 2023).
8. **Homeostasis:** Es el proceso autorregulado por el cual un organismo mantiene un entorno interno relativamente estable, a pesar de cambios externos o internos. Esto implica mecanismos de feedback que corrigen desviaciones hacia valores óptimos para la supervivencia y función normal (Blanpain & Fuchs, 2009).
9. **Matriz Extracelular:** Red tridimensional de macromoléculas, como colágeno, elastina y proteoglicanos, que proporciona soporte estructural y regula procesos celulares en tejidos y órganos (Alberts et al., 2017).
10. **Microalgas:** Organismos fotosintéticos unicelulares o multicelulares muy pequeños que habitan ambientes acuáticos (agua dulce o salada). Tienen la

capacidad de generar compuestos bioactivos, fijar CO<sub>2</sub>, producir oxígeno y pueden ser utilizados en biotecnología o biomateriales (ALI et al., 2022).

11. **Submucosa:** Capa de tejido conectivo denso debajo de la mucosa en órganos huecos, que contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, proporcionando soporte y nutrición (Mescher L & Anthony, 2019).

# **CAPÍTULO III**

---

## **3. MARCO METODOLÓGICO**

### 3.1 Tipo y diseño de la investigación

El presente estudio es de tipo experimental, ya que se llevó a cabo la manipulación intencional de variables con el propósito de observar sus efectos sobre las propiedades del biomaterial desarrollado. En este caso, las variables manipuladas incluyeron los protocolos de descelularización aplicados al tejido porcino y la incorporación de microalgas fotosintéticas dentro de la matriz descelularizada. El objetivo principal fue evaluar cómo estas condiciones experimentales influyen en la estructura, composición bioquímica y biocompatibilidad del material obtenido, para determinar la viabilidad de su uso como un biomaterial fotosintético destinado al tratamiento de heridas cutáneas crónicas.

El diseño de la investigación es cuasi-experimental de laboratorio, debido a que los experimentos se realizaron bajo condiciones controladas dentro del entorno del laboratorio, pero sin un muestreo aleatorio. Este diseño permitió comparar los resultados obtenidos entre diferentes protocolos de descelularización y evaluar el desempeño del biomaterial generado, asegurando la reproducibilidad de los ensayos. Asimismo, la investigación integra elementos de diseño exploratorio y aplicado, ya que se buscó generar nuevo conocimiento sobre la fabricación de biomateriales fotosintéticos y, al mismo tiempo, aplicar dichos resultados al desarrollo de una alternativa terapéutica potencialmente útil en el campo de la ingeniería tisular y la medicina regenerativa.

### 3.2 Materiales equipos y reactivos

Para la disección y preparación del tejido:

- Solución salina tamponada con fosfatos (PBS) 1X.
- Bisturíes, pinzas y tijeras quirúrgicas.
- Guantes de látex y material de vidrio estéril.
- Agua destilada.

Para la descelularización del tejido:

- SDS (Dodecilsulfato de sodio) al 0.05 %.
- Tritón X-100 al 0.1 %.
- PBS.

Para las pruebas de caracterización bioquímica:

- Reactivo Picogreen®.
- Buffer de lisis y reactivos auxiliares de extracción.
- Agarosa y TBE buffer 1X.

Para análisis microscópico y coloraciones:

- Portaobjetos y cubreobjetos.

- Karnovsky (fijador a base de glutaraldehído y paraformaldehído para preservación estructural previa a microscopía).
- Etanol al 70 %, 90 % y 100 %.

#### Equipos e instrumentos utilizados

- Campana de flujo laminar.
- Centrífuga de laboratorio.
- Baño termostataado y agitador magnético, para preparación de soluciones.
- Microscopio de fluorescencia confocal.
- Microscopio electrónico de barrido (SEM).
- Cámara de electroforesis y fuente de poder.
- Lector multiplacas.
- Refrigerador y congelador de laboratorio.
- Balanzas analíticas.
- Micropipetas y puntas estériles.
- Tubos Eppendorf, tubos Falcon y material plástico de laboratorio.

### 3.3 Procedimiento de la investigación

---

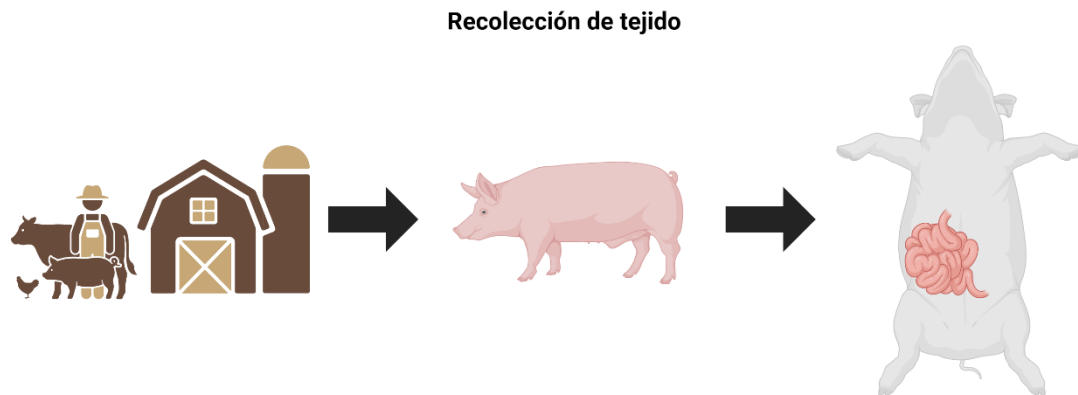
#### 3.4 Obtención y caracterización de matriz extracelular de submucosa intestinal porcina.

##### 3.4.1 Recolección y limpieza de materia prima

Los intestinos delgados porcinos fueron recolectados en el matadero Municipal de la Chorrera en la provincia de Panamá Oeste. Se introdujo una manguera con agua corriente en uno de los extremos del intestino permitiendo que agua fluyera continuamente para lavar los desechos internos (Rashtbar et al., 2018). Luego el intestino limpio fue cortado en piezas de 10 centímetros. Los segmentos obtenidos se colocaron en un balde limpio mientras el resto todavía se estaba cortando. (Yi et al., 2013)

Una vez cortado todos los trozos, estos se sumergieron en un tanque que contenía penicilina y estreptomicina al 1% y ácido peracético al 0.1%. Posteriormente las secciones fueron enjuagadas con PBS al 1X (Thomas Scientific, P3813) durante 2 minutos. Este procedimiento de lavado se repitió en un total de ocho veces.

Tras completar los lavados, se seleccionaron cinco fragmentos de intestino y se colocaron en bolsas herméticas Ziploc, añadiendo una solución de PBS al 1X (Thomas Scientific, P3813) con penicilina y estreptomicina al 1%. Las bolsas con las muestras se almacenaron temporalmente en hielo seco granizado para su transporte. Finalmente, las muestras se conservaron a -80°C para su posterior uso en las etapas subsecuentes del proceso experimental. (Yi et al., 2013)



*Figura 9. Esquema de la obtención del tejido intestinal*

### **3.4.2 Obtención de la submucosa intestinal**

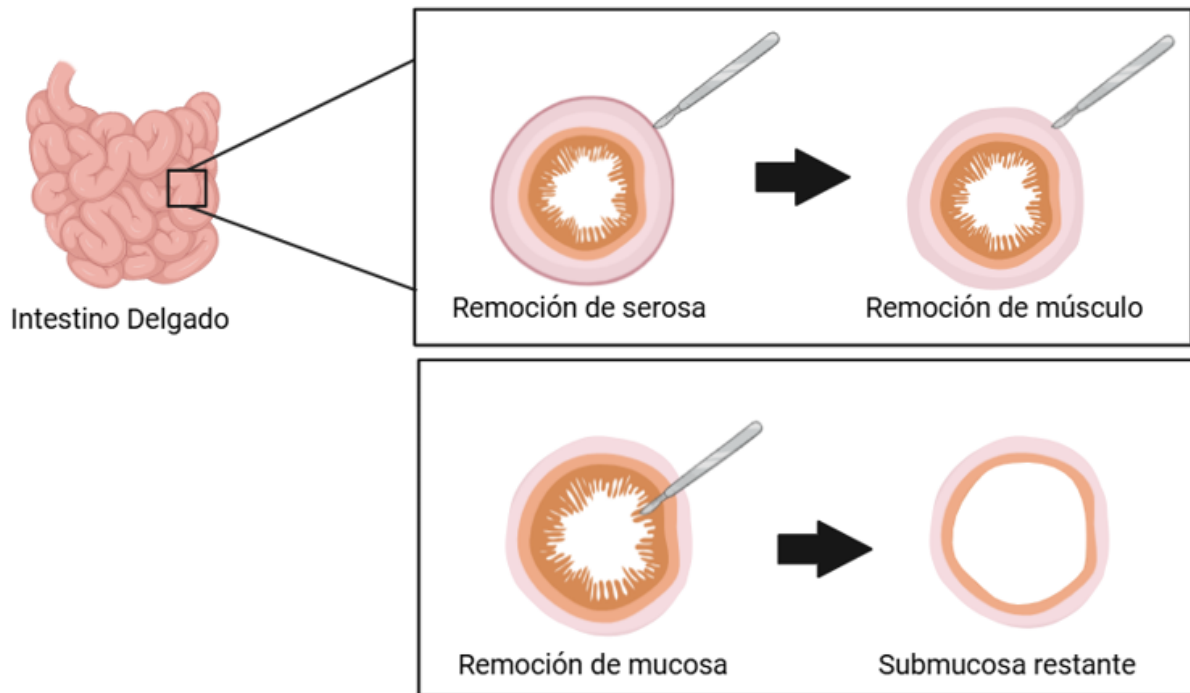
Las bolsas Ziploc que contenían los intestinos previamente congelados se colocaron en un recipiente con agua a 37°C durante 20 minutos para descongelarlos de manera uniforme. Debido a la longitud de los intestinos, fue necesario voltearlos cada 10 minutos para garantizar un calentamiento homogéneo. (Ji et al., 2019)

Una vez descongelados, los intestinos se trasladaron a una cabina estéril, donde se colocaron sobre una superficie fría. Si los intestinos aún no estaban cortados, se seccionaron en trozos de aproximadamente 10 centímetros de longitud utilizando herramientas de medición y corte adecuadas. (Parmaksiz et al., 2018)

Para delaminar las capas del intestino, primero se retiró la capa mucosa. Esto se realizó empleando un bisturí y una gasa, teniendo a disposición un recipiente con agua destilada para limpiar regularmente los residuos de mucosa acumulados en la gasa. Posteriormente, el intestino se volvió y se hicieron pequeñas incisiones en la capa serosa. Esta capa se retira cuidadosamente con la ayuda de una pinza de ligadura,

asegurándose de no dañar las capas subyacentes (Parmaksiz et al., 2018) (Luo et al., 2011)

Seguidamente, se realizaron incisiones en la capa muscular y se procedió a retirarla utilizando nuevamente una pinza de ligadura. Es importante notar que, en muchos casos, la capa muscular se desprende junto con la capa serosa durante el proceso de delaminación. Una vez que todas las capas no deseadas han sido eliminadas, el tejido restante se enjuagó minuciosamente con agua destilada para remover cualquier residuo de tejido adherido. Finalmente, el tejido limpio se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  para preservar la estructura y evitar la degradación de ADN. (Parmaksiz et al., 2018)



*Figura 10 Delaminación de las capas intestinales*

### 3.5 Descelularización

Para el proceso de descelularización se realizaron 4 protocolos distintos para evaluar su eficiencia.

Protocolo A (Rashtbar et al., 2018)

Este protocolo empezó con una incubación en PBS al 1X (Thomas Scientific, P3813) con penicilina y estreptomina al 1% durante 48 horas a 37°C en un agitador con termostato (Incushaker Mini, Benchmark). Luego el tejido se incubó en SDS al 0.05% durante 6 horas. Y la última incubación fue en Triton X100 al 0.1% (VWR, M143-11) durante 3 horas. Entre cada uno de los tratamientos se realizaron 3 lavados con agua destilada cada uno de ellos de 30 minutos.

Duración: 2 días y 13 horas

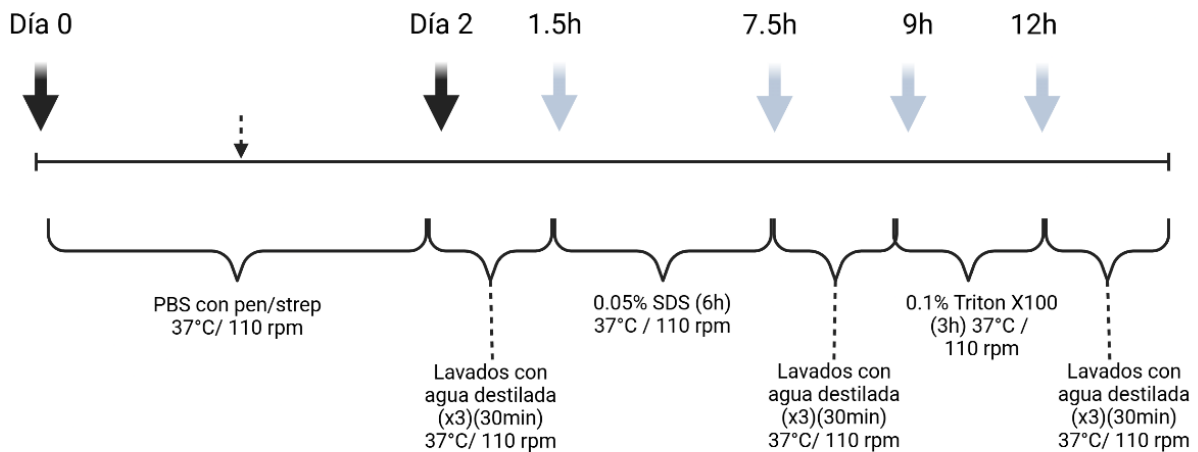
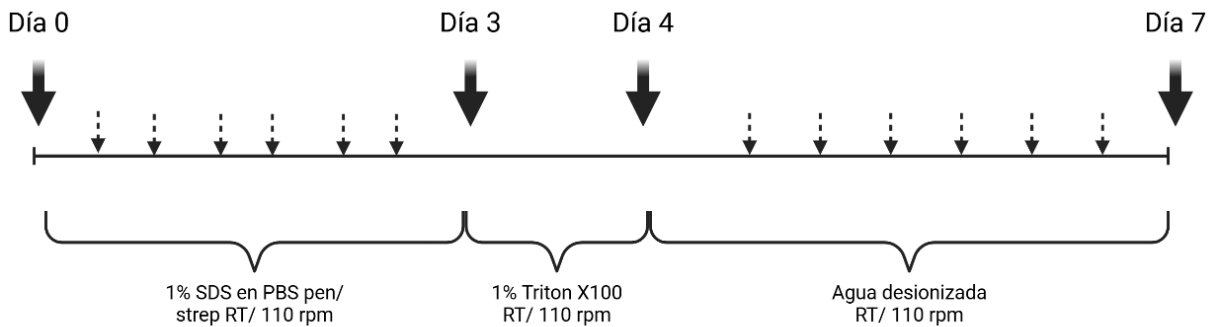


Figura 11. Esquema del primer protocolo de descelularización

Protocolo B (Duong et al 2024)

Este segundo protocolo empezó con una incubación en SDS al 1% (IBISCIENFIFIC, 21K3005) preparado en PBS al 1X (Thomas Scientific, P3813) con penicilina y estreptomicina al 1% durante 72 horas. Aquí se realizaron cambios de medio cada 12 horas. Seguidamente se incubó en Triton X100 al 1% (VWR, M143-1L) durante 24 horas sin cambios de medio. Y por último se lavó vigorosamente en agua desionizada (PROMED, P-001) durante 72 horas, con cambios de medio cada 6 u 8 horas. Las incubaciones se realizaron en un agitador mecánico (Orbital Shaker, LE8S).

Duración: 7 días



*Figura 12. Esquema del segundo protocolo de descelularización*

Protocolo C (Abraham et al., 2000)

Este tercer protocolo empezó con una incubación en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 100 mM y 10 mM de hidróxido de sodio con un pH de 11 - 12 durante 16 horas. Luego se incubó en ácido clorhídrico al 1 M combinado con cloruro de sodio al 1 M, ajustado a un pH de 0 - 1, durante 8 horas. Seguidamente se incubó en una solución de cloruro de sodio al 1 M y PBS al 10 mM (Thomas Scientific, P3813), ajustado a un pH de 7.4, durante 16 horas. Finalmente se realizó una incubación en PBS a 1X (Thomas Scientific, P3813), pH 7.4, durante 2 horas. Entre cada incubación

se realizaron tres lavados con agua destilada de 30 minutos cada lavado. En todos los pasos, la relación volumen/volumen (v/v) de las soluciones químicas respecto al tejido fue de 100:1, y todas las incubaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente. (Abraham et al., 2000)

Duración: 2 días

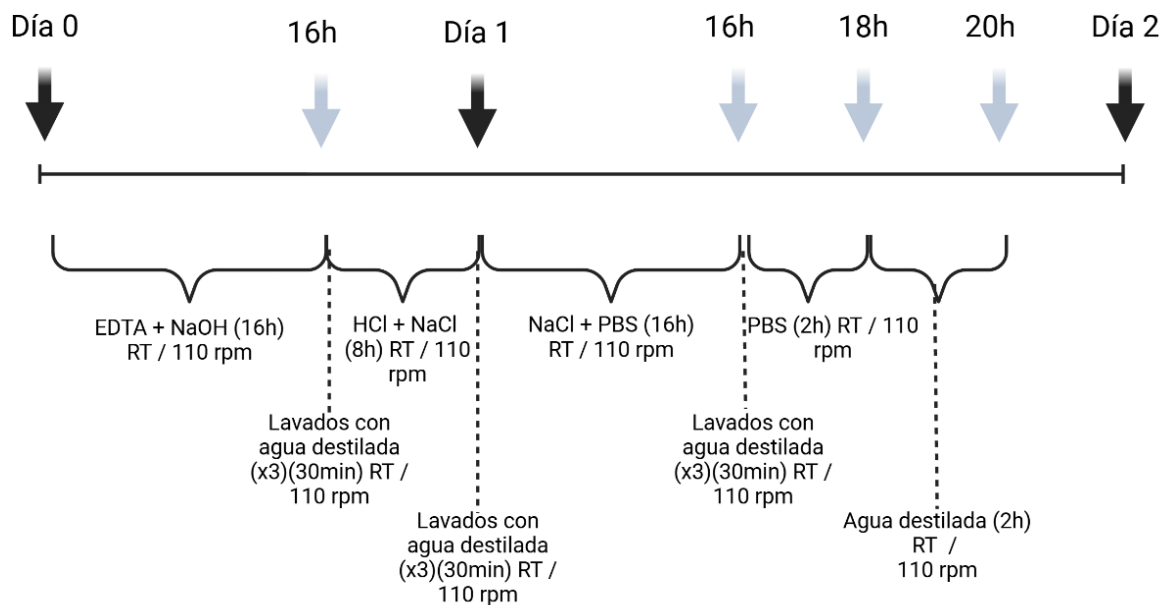


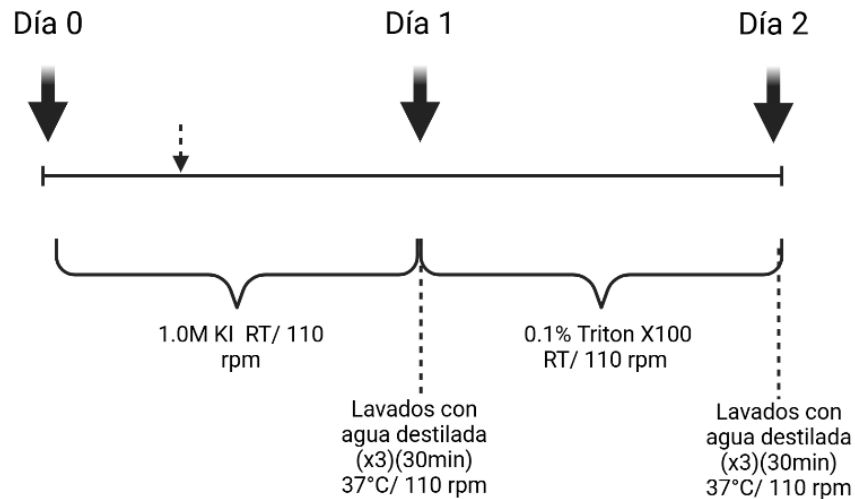
Figura 13. Esquema del tercer protocolo de descelularización

Protocolo D (Singh et al., 2022)

Este cuarto y último protocolo empezó incubando el tejido en yoduro de potasio a 1M (ChemCenter, CAS#7681-11-0) durante 24 horas. Después de las primeras 8 horas, se realizó un cambio de medio. La segunda incubación se realizó con Triton X-100 al 0.1% (VWR, M143-1L) durante 24 horas. Entre las incubaciones se realizaron tres lavados con agua destilada por 30 minutos cada lavado. Las incubaciones se

realizaron en un agitador mecánico (Orbital Shaker, LE8S) a 120 rpm a temperatura ambiente.

Duración: 2 días



*Figura 14. Esquema del cuarto protocolo de descelularización*

### 3.5.1 Esterilización del andamio descelularizado

Después de completar los protocolos de descelularización, las muestras de submucosa intestinal descelularizadas se esterilizaron enjuagándolas en una solución de etanol/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [70% (v/v) de etanol + 0.1% (v/v) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] durante 2 horas, seguido de un lavado con agua destilada para eliminar la solución de esterilización restante.

Algunas de las muestras de submucosa intestinal descelularizadas se liofilizaron y esterilizaron nuevamente usando luz UV durante 30 minutos (15 minutos por cada lado). Las muestras liofilizadas se empaquetaron en bolsas Ziploc y almacenadas a -80°C. Las muestras que no fueron liofilizadas se guardaron en una solución de PBS a 1X (Thomas Scientific, P3813) con penicilina y estreptomicina a 1% a 4°C.

### **3.5.2 Extracción de ADN**

Para la extracción del ADN, las muestras de matriz descelularizada fueron pulverizadas utilizando un mortero. Posteriormente, se añadieron 1 mL de buffer SNET junto con proteinasa K, alcanzando una concentración final de 100 µg/mL. La mezcla fue incubada a 56 °C por un máximo de 24 horas. Luego, se agregó un volumen igual de buffer de unión y la solución resultante fue cargada en una columna montada sobre un tubo de recolección, la cual se centrifugó durante 1 minuto a 14 000 rpm, descartando el líquido filtrado.

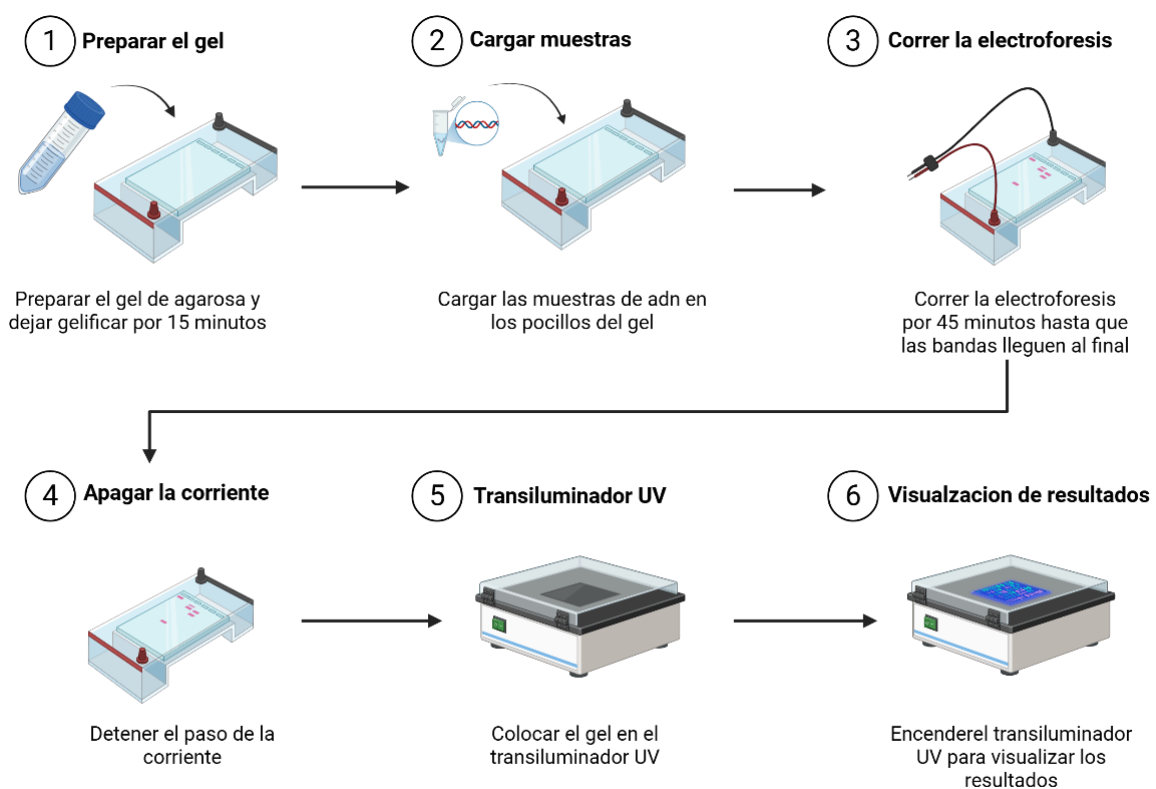
La columna fue lavada con 500 µL de buffer de lavado 1 y centrifugada nuevamente durante 1 minuto a 14 000 rpm. Después, se realizó un segundo lavado con buffer de lavado 2, repitiendo la centrifugación bajo las mismas condiciones. A continuación, se realizó una centrifugación adicional de 2 minutos para eliminar el líquido residual.

Para la elución del ADN, se añadieron 100 µL de agua ultrapura directamente sobre la resina de la columna, incubando a temperatura ambiente durante 2 minutos. Finalmente, la columna fue colocada en un tubo limpio y centrifugada a 14 000 rpm por 2 minutos. El ADN eludido fue almacenado a 4 °C hasta su posterior análisis.

### **3.5.3 Análisis cualitativo de ADN mediante electroforesis de agarosa**

Para realizar la electroforesis en gel de agarosa, primero se prepararon las muestras mezclando 5 µl de ADN con 1 µl de cargador de muestras, y se cargaron en los pocillos del gel junto con un marcador de peso molecular en un pocillo separado. Luego, se colocó el gel solidificado en la cubeta de electroforesis y se cubrió con buffer de corrida TBE 1X. Las muestras y el marcador se cargaron cuidadosamente en los pocillos, se conectó la fuente de poder verificando que la corriente fluyera de cátodo (-) a ánodo

(+), y se realizó la corrida a un voltaje de 80-120 V durante 30-60 minutos. Una vez finalizada la corrida, el gel se retiró con precaución y se observó en un transiluminador UV para visualizar las bandas de ADN. Finalmente, se comparan las bandas de muestra con el marcador de peso molecular para estimar el tamaño de los fragmentos, se documentan los resultados mediante fotografía del gel y se analiza la presencia, tamaño y calidad del ADN según las bandas obtenidas.



*Figura 15. Esquema del gel de agarosa*

### 3.5.4 Análisis cuantitativo de ADN mediante PicoGreen Assay

Para la cuantificación de ADN se utilizó el kit Quant-iT™ PicoGreen™ de Thermo Fisher Scientific. Se empezó con la preparación de una solución de trabajo diluyendo el reactivo PicoGreen™ 200 veces en un buffer TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 7.5). Luego, se prepararon los estándares de ADN lambda a una concentración de 2

$\mu\text{g/mL}$  en TE 1X para generar la curva estándar. Las muestras de ADN se diluyeron adecuadamente para que su concentración se encuentre dentro del rango de detección del ensayo (25  $\text{pg/mL}$  a 1,000  $\text{ng/mL}$ ). Posteriormente, se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de cada estándar y muestra en una microplaca, seguido por 100  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo de PicoGreen™, asegurando una mezcla homogénea. La microplaca se incubó a temperatura ambiente durante 2 a 5 minutos protegida de la luz. Finalmente, se midió la fluorescencia utilizando un lector de microplacas con una longitud de onda de excitación de 480 nm y emisión de 520 nm.

### **3.5.5 Caracterización mecánica**

Para la evaluación de las propiedades mecánicas de los parches descelularizados, se realizaron ensayos de tracción uniaxial utilizando un analizador de materiales Shimadzu AGS-J. Estas pruebas tuvieron como objetivo determinar parámetros como la resistencia máxima a la tracción, el módulo elástico y el alargamiento máximo del tejido descelularizado, a fin de comparar su comportamiento mecánico con el del tejido nativo (Rashtbar et al., 2018).

Las muestras fueron cortadas en forma rectangular con dimensiones estandarizadas (aproximadamente 10 mm de largo por 5 mm de ancho) y se mantuvieron hidratadas en solución salina (PBS 1X) hasta el momento del ensayo, con el fin de preservar sus propiedades estructurales. Cada extremo de la muestra fue asegurado en las mordazas del equipo, cuidando que no se produjera deslizamiento ni deformación previa (Palmosi et al., 2022).

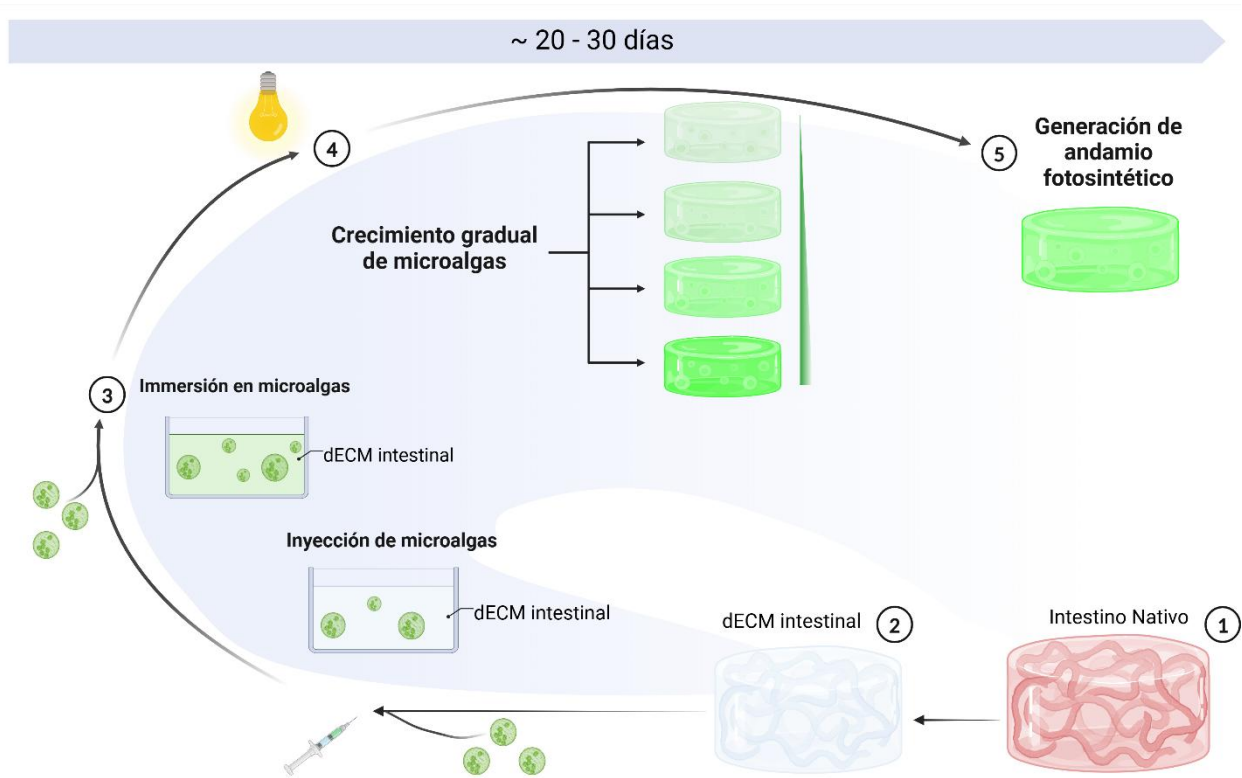
Las pruebas se realizaron a una velocidad de desplazamiento de 10 mm/min hasta la ruptura de la muestra. Durante el ensayo, el software del equipo registró en tiempo

real la curva esfuerzo-deformación, a partir de la cual se calcularon los valores de esfuerzo máximo, módulo de Young (pendiente de la región lineal de la curva) y porcentaje de elongación.

La transparencia de las muestras descelularizadas se evaluó de forma cualitativa colocando una letra impresa debajo de cada una de ellas. La claridad con la que podía observarse el texto a través del tejido permitió estimar visualmente el grado de transparencia alcanzado tras el proceso de descelularización.

### **3.6 Generación del andamio fotosintético**

El proceso de incorporación de microalgas al andamio descelularizado inició con la preparación del tejido en condiciones óptimas para la colonización fotosintética. Primero, los andamios descelularizados se sumergieron en medio de cultivo Bold Basal a 1X. Esta inmersión se realizó durante un período de 2-3 días para acondicionar la matriz y asegurar una adecuada hidratación y equilibrio osmótico del tejido. Posteriormente, se procedió a la inyección de microalgas *Chlorella Vulgaris* directamente en el andamio utilizando una jeringa (Med-Needle, U-100). Las microalgas se introdujeron en varias secciones del tejido de manera uniforme, asegurando una distribución adecuada en toda la matriz.



*Figura 16. Esquema de la generación del andamio fotosintético*

Tras la inyección, los andamios se sumergieron nuevamente en un recipiente con medio Bold fresco que contiene microalgas en suspensión. El sistema se mantuvo bajo una fuente de luz blanca constante, con una intensidad luminosa adecuada para promover la actividad fotosintética.

El progreso del cultivo se supervisó diariamente, observando la coloración del andamio como indicador visual de la colonización exitosa. Si se detecta una disminución en el volumen del medio o signos de agotamiento de nutrientes, se adiciona medio Bold fresco para mantener las condiciones de cultivo ideales. Este protocolo se sigue hasta alcanzar una colonización estable y homogénea, lista para su caracterización y pruebas posteriores.

### 3.6.1 Caracterización mediante microscopía electrónica de barrido

Las muestras se fijaron en la solución de Karnovsky durante 90 minutos a temperatura ambiente para preservar su estructura. Esta solución está compuesta por un 8% de paraformaldehído, 10% de glutaraldehído al 50% y un 40% de buffer de cacodilato a 0.2M, con un pH de 7.2 a 7.4. Posteriormente, antes del análisis, se enjuagaron las muestras con PBS para eliminar cualquier residuo de la solución de Karnovsky. Luego, se procedió a la deshidratación de las muestras mediante una serie de concentraciones crecientes de etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 90% y 100%), exponiéndolas durante 10 minutos en cada concentración. Finalizada la deshidratación, las muestras fueron conservadas en etanol absoluto (100%) y trasladadas al Instituto Smithsonian de Investigación Tropical (STRI). En donde se colocaron en un secador de punto crítico (EM CPD300 Critical Point Dryer) para hacer el intercambio de etanol a CO<sub>2</sub>, seguido de un recubrimiento con una fina capa de oro/paladio mediante un proceso de metalización (Anatech Hummer) y posterior análisis mediante SEM.

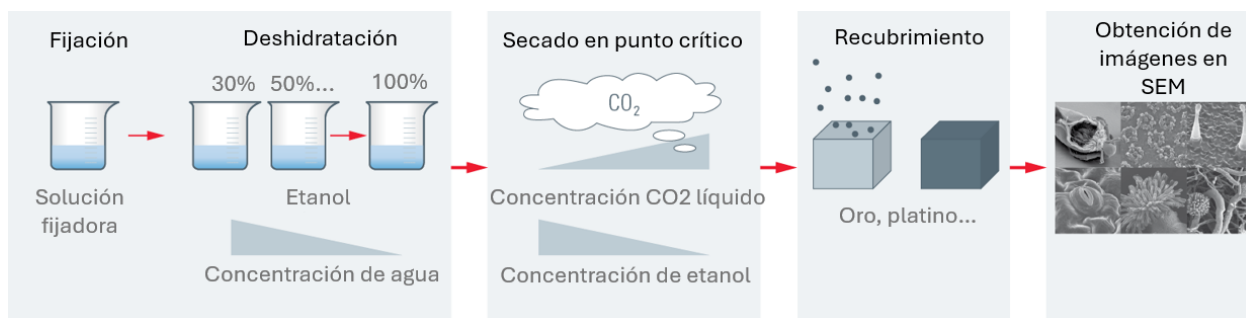


Figura 17. Esquema para SEM

### **3.6.2 Caracterización mediante microscopía de fluorescencia**

Para la caracterización de la integración de microalgas en el parche descelularizado, se empleó un microscopio confocal de fluorescencia Olympus Fluoview FV3000. Se analizaron dos grupos de muestras: el andamio descelularizado (control) y el andamio fotosintético (experimental). No fue necesario realizar tinciones o tratamientos adicionales, dado que las microalgas presentan autofluorescencia natural al ser excitadas con luz azul. Esta propiedad permitió visualizar directamente su distribución tridimensional y viabilidad dentro del andamio sin alterar su estructura ni comprometer la integridad de la muestra.

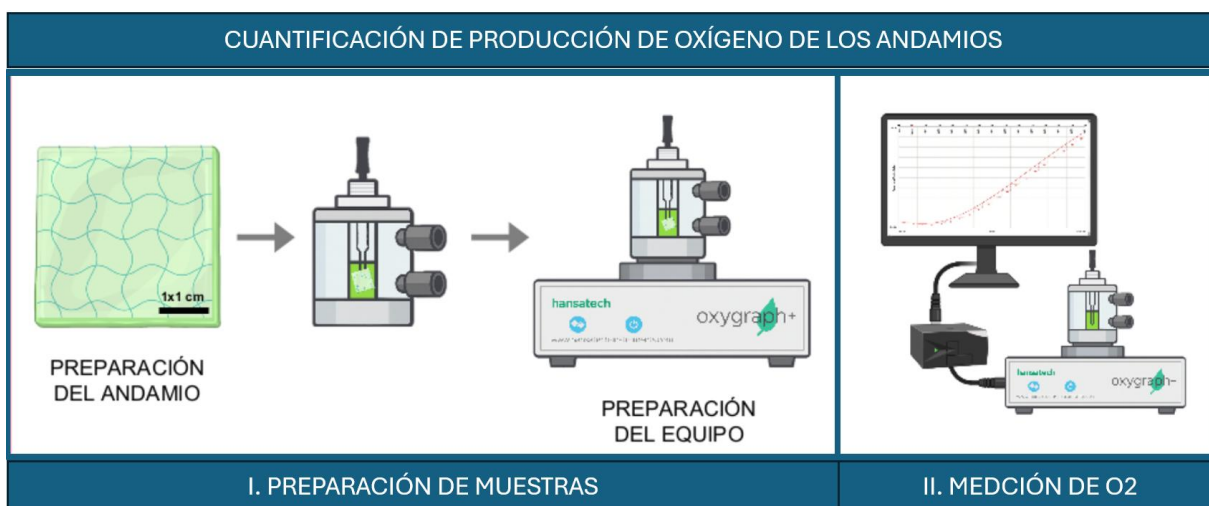
Las muestras fueron colocadas sobre portaobjetos y observadas mediante el sistema confocal, utilizando un láser de excitación en el rango de 450–490 nm y una ventana de emisión entre 500–550 nm. Se obtuvieron imágenes de alta resolución a diferentes planos focales (Z-stack) para documentar la presencia, organización y profundidad de integración de las microalgas en el tejido descelularizado.

### **3.6.3 Caracterización mediante la liberación de oxígeno**

La medición de oxígeno disuelto se llevó a cabo utilizando un oxígrafo Hansatech (Oxygraph, Hansatech Instruments, Reino Unido), equipado con un electrodo tipo Clark. Este equipo mide en tiempo real la concentración de oxígeno disuelto en una solución, a partir de la señal eléctrica generada por la reducción del oxígeno en el cátodo del electrodo.

Para cada medición, se colocó el andamio de 10 mm de tamaño en la cámara del equipo y se añadieron 300  $\mu$ L de medio Bold, asegurando que la muestra quedara completamente cubierta. Posteriormente, la cámara fue cerrada con el tapón hermético

provisto por el sistema, el cual se ajustó de manera que quedara aproximadamente a 2 mm de distancia del menisco del medio. Esta disposición permitió mantener un espacio adecuado para la detección del oxígeno, evitando al mismo tiempo la formación de burbujas que pudieran interferir en la medición.



*Figura 18. Diagrama del proceso de cuantificación de oxígeno de los andamios*

Las mediciones se realizaron durante un periodo de 6 horas, bajo condiciones controladas de temperatura y con exposición a luz continua, con el objetivo de favorecer la actividad fotosintética de las microalgas presentes en el grupo experimental. El equipo registró la concentración de oxígeno disuelto cada 2.5 segundos de forma continua, y los datos obtenidos fueron exportados en formato digital para su análisis comparativo entre ambos grupos.

### **3.7 Prueba de biocompatibilidad mediante un modelo murino de lesión cutánea**

Para la evaluación del parche cutáneo fotosintético, se trabajó con un modelo murino conformado por ratones hembra de la cepa C57BL/6, con edades entre 7 y 9 semanas y un peso corporal de 19 a 25 g. La elección de hembras respondió a su menor

agresividad, lo cual minimizó el riesgo de lesiones adicionales y facilitó la manipulación (Takahashi, 2021); (Fulenwider et al., 2022). El estudio se realizó en el bioterio del centro de investigación INDICASAT-AIP.

#### Preparación prequirúrgica

Se administró el antibiótico ciprofloxacina (30 mg/kg) por vía intraperitoneal, entre 30 y 60 minutos antes del procedimiento quirúrgico, como profilaxis para evitar infecciones bacterianas en la herida (Cárdenas-Calderón et al., 2022). Asimismo, se aplicó el analgésico meloxicam (5 mg/kg, SC) una hora antes de la cirugía para manejo del dolor. Con el fin de prevenir la deshidratación durante el procedimiento, se inyectaron 0,5 ml de solución salina fisiológica por vía subcutánea al inicio del protocolo quirúrgico (Schenck et al., 2014).

#### Anestesia y preparación quirúrgica

La anestesia se realizó por inhalación de isoflurano al 1–2%, confirmando la pérdida del reflejo de retiro en extremidades y cola antes de proceder con la lesión (Constantinides et al., 2011); (Hohlbaum et al., 2017). Una vez anestesiados, los ratones fueron colocados en decúbito esternal y se les aplicó gel oftálmico (Nico-tears) para evitar reseque-dad ocular (Zhou et al., 2019). Luego, se realizó la depilación de la zona dorsal con algodón estéril y agua tibia, asegurando una piel limpia y seca antes de marcar el área de intervención con bolígrafo permanente de punta fina (Yao et al., 2014); (Cárdenas-Calderón et al., 2022). La piel rasurada se desinfectó con gluconato de clorhexidina al 2%, trabajando en condiciones estériles, aunque fuera de cabina de

bioseguridad, de acuerdo con indicaciones del equipo veterinario (Chen et al., 2024);(Corrales-Orovio et al., 2023).

#### Inducción de la herida cutánea

Se generó una única herida circular de espesor total en la región dorsal, con un punzón de biopsia de 8 mm, asegurando una forma y tamaño uniforme. La laceración se realizó con tijeras quirúrgicas, retirando completamente la epidermis sin provocar sangrado (Schenck et al., 2014). La ubicación de la lesión fue cuidadosamente seleccionada para evitar zonas caudales susceptibles a manipulación por parte del animal.

#### Colocación del andamio y sutura

Una vez expuesta la dermis, se colocó directamente sobre la herida el andamio cutáneo (biomaterial). A continuación, se realizó la sutura del andamio en cuatro puntos equidistantes (superior, laterales e inferior) con nudos simples utilizando sutura no biodegradable Ethilon 5/0. Se procuró que los bordes quedaran ligeramente por encima del biomaterial. En caso necesario, se añadieron hasta dos suturas adicionales (Corrales-Orovio et al., 2023).

#### Diseño experimental

Se trabajó con tres grupos experimentales (n = 3 ratones por grupo), distribuidos de la siguiente manera: Grupo 1 (Control negativo): herida sin aplicación de biomaterial. Grupo 2 (Control positivo): herida cubierta con biomaterial descelularizado sin microalgas (Wosgrau et al., 2015). Grupo 3 (Experimental): herida cubierta con el andamio fotosintético. Los ratones fueron alojados individualmente para evitar interferencias por contacto físico, como mordidas o rascados, y reducir el estrés. Todos

los grupos experimentales fueron expuestos a un ciclo de iluminación controlada de 12/12 horas luz/oscuridad, con un período de 2 horas de luz roja diaria, evitando una exposición acumulada mayor a 12 horas por día como se puede observar en la Figura 19 (Chávez et al., 2016).

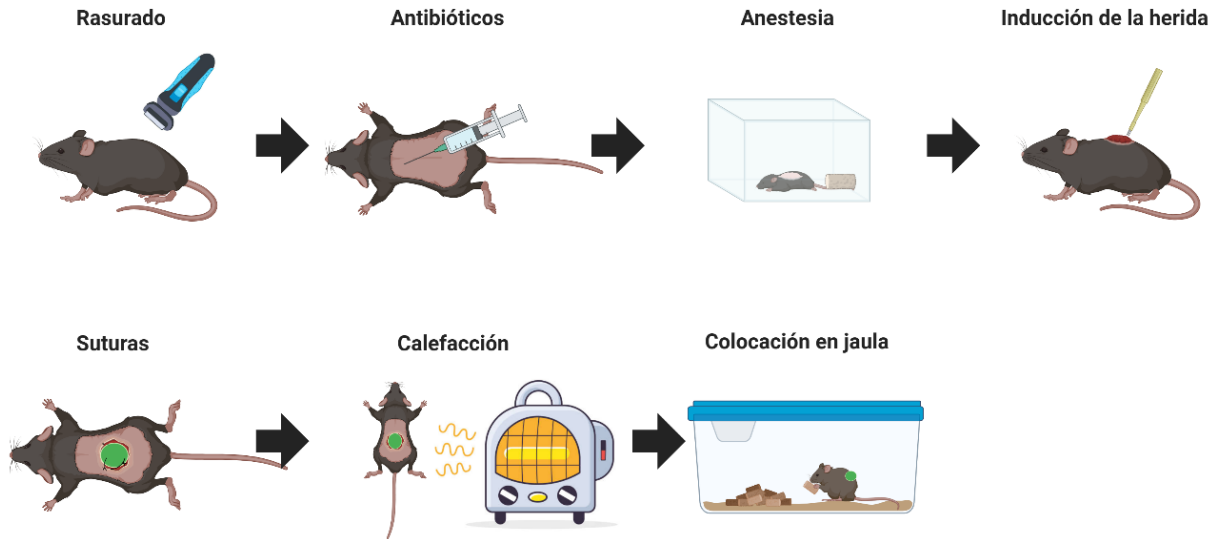


Figura 19. Esquema del proceso quirúrgico para la aplicación de los andamios

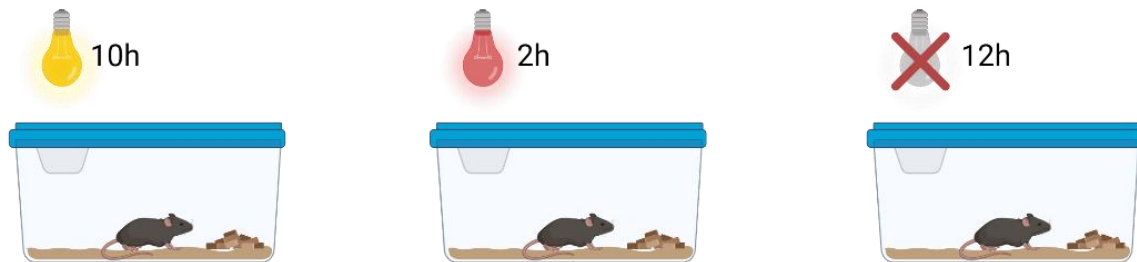


Figura 20. Condiciones de luz

# **CAPÍTULO IV**

---

## **4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

### **4.1 Obtención y caracterización de matriz extracelular de la submucosa intestinal porcina.**

#### **4.1.1 Recolección de la materia prima**

La materia prima fue recolectada en el matadero municipal de La Chorrera (Figura 20), donde se obtuvieron segmentos de intestino delgado porcino con buena integridad estructural y sin signos evidentes de degradación (Figura 21). El tejido presentaba una coloración rosácea intensa, abundante contenido intestinal y trazas de sangre, características propias del material recién extraído. Tras el proceso de limpieza con solución salina estéril (PBS 1X), se observó una eliminación efectiva de los residuos orgánicos y del contenido luminal. El tejido adquirió una apariencia más clara, con menor opacidad y sin presencia visible de mucosidades o restos hemáticos. Esta limpieza permitió exponer las distintas capas del intestino, facilitando la posterior obtención de la submucosa y asegurando un punto de partida adecuado para las siguientes etapas del proceso experimental.



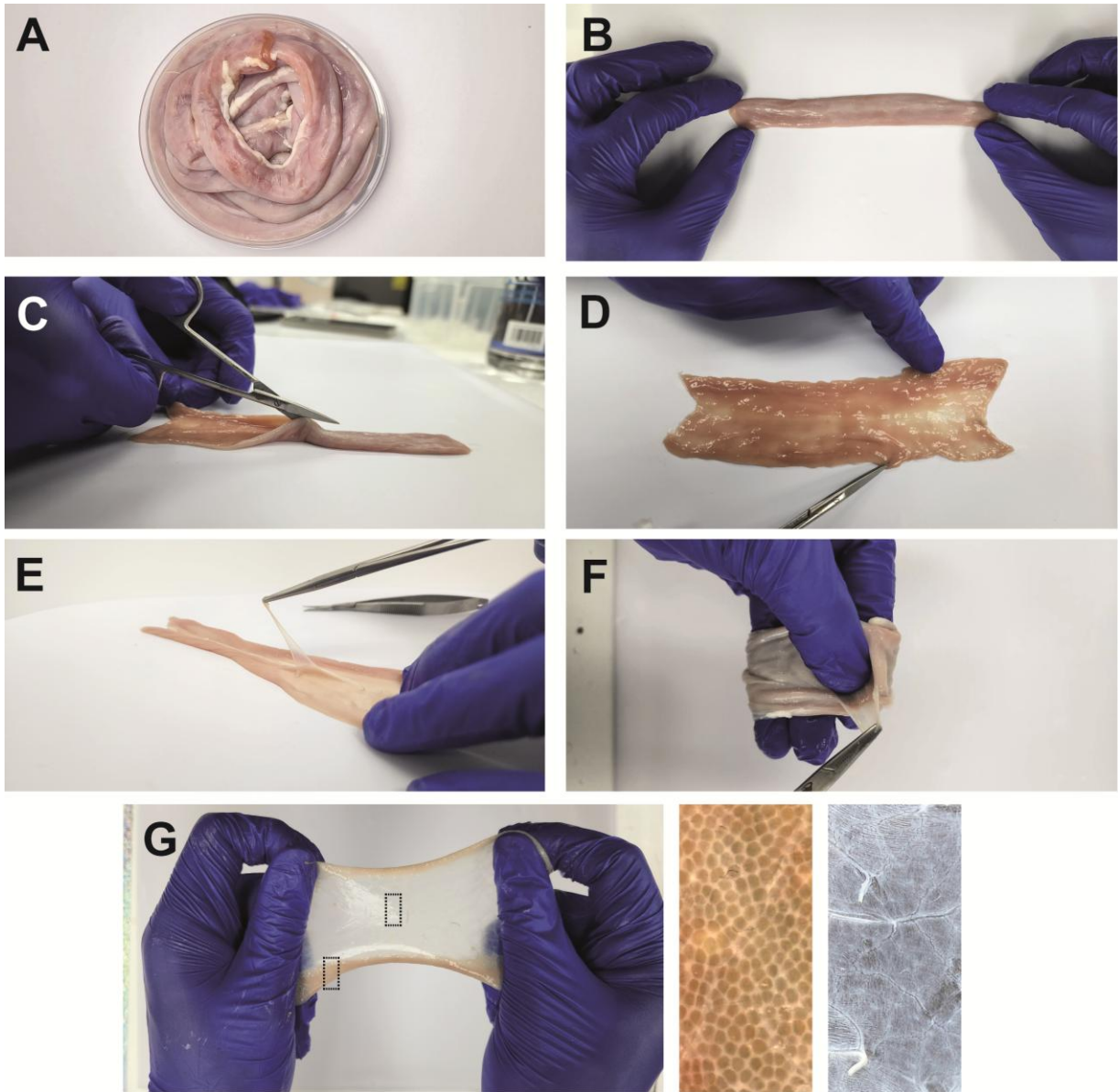
*Figura 21. Matadero Municipal de La Chorrera*



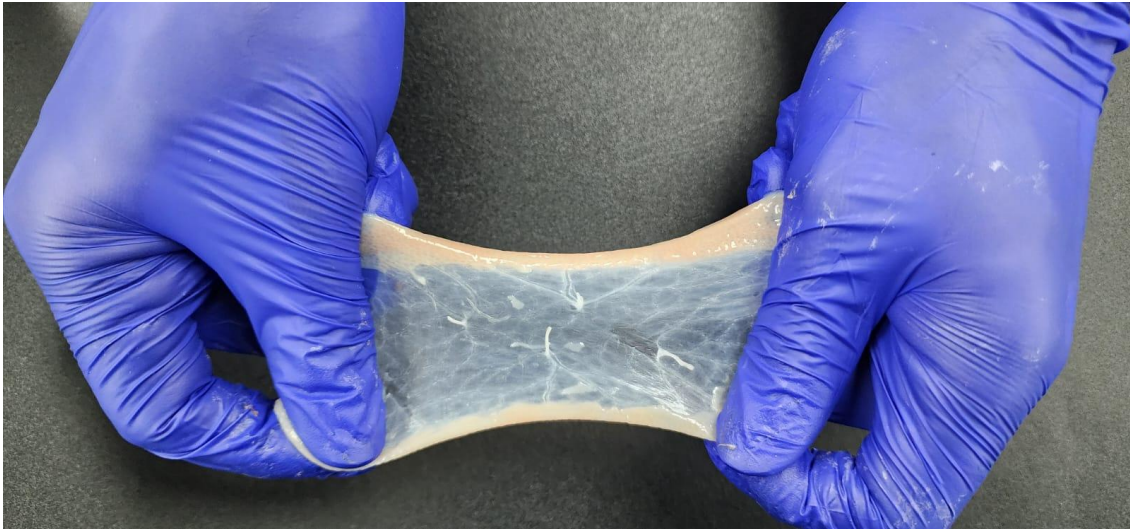
*Figura 22. Intestino delgado porcino separado*

#### **4.1.2 Obtención de la submucosa intestinal**

A partir del tejido intestinal limpio, se logró separar exitosamente la capa de submucosa en el 100% de las muestras procesadas. La disección permitió remover de forma progresiva las capas mucosa y muscular externa, revelando una capa intermedia de aspecto blanquecino y textura fibrosa, correspondiente a la submucosa (Figura 23). Durante el procedimiento se observó que la mucosa era fácilmente desprendible, mientras que la capa muscular requería mayor cuidado para evitar desgarros del tejido subyacente. La submucosa obtenida mostró una superficie continua, sin rupturas evidentes ni adherencias residuales de otras capas. Los fragmentos aislados presentaban un grosor uniforme, con una estructura translúcida que contrastaba visiblemente con el tejido nativo completo. Este resultado confirmó que el método de separación manual utilizado fue eficaz para obtener el componente específico requerido para la elaboración del andamio biológico.



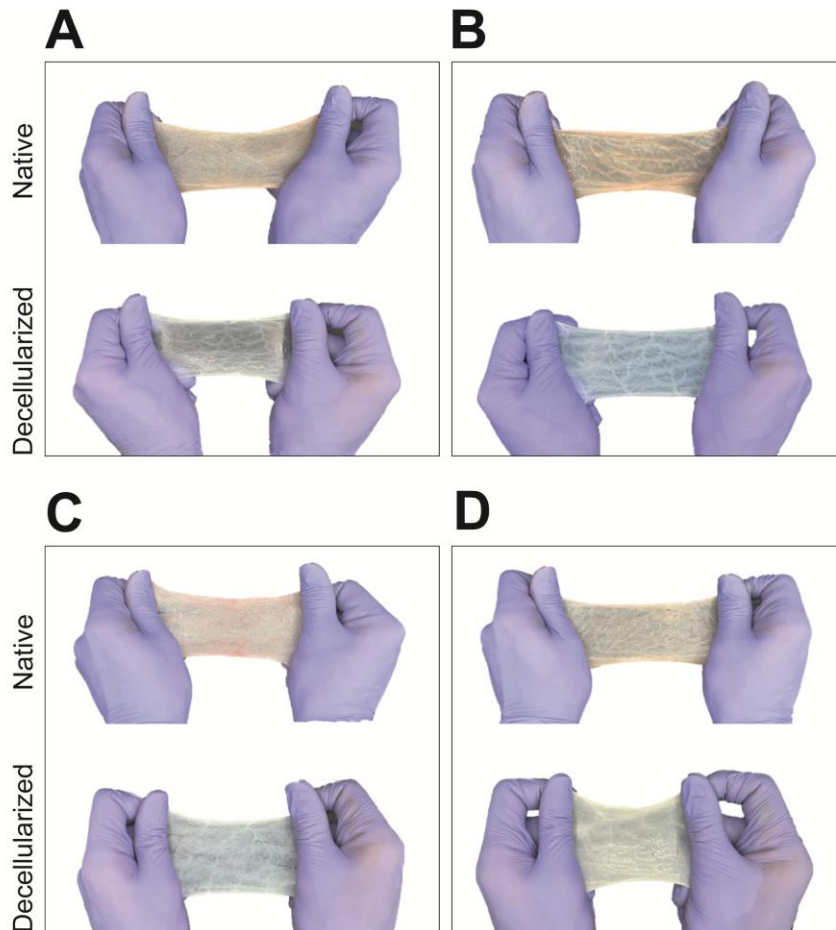
*Figura 23. Proceso de delaminación del intestino delgado*



*Figura 24. Resultado final del proceso de delaminación*

#### **4.2 Descelularización**

Durante el proceso de descelularización se observó un cambio colorimétrico evidente entre las muestras de tejido nativo y las muestras tratadas. Inicialmente, el tejido nativo presentaba un tono rosado-rojizo, característico de la presencia de componentes celulares y restos hemáticos. Tras la aplicación del protocolo de descelularización, las muestras adquirieron un color blanquecino y semitransparente, indicando la eliminación efectiva del contenido celular y la preservación de la matriz extracelular. Este cambio visual constituye un indicador cualitativo del éxito del proceso de descelularización (Figura 24).



*Figura 25. Cambio colorimétrico de la submucosa intestinal*

#### **4.2.1 Esterilización del tejido**

Tras la etapa de descelularización, los andamios fueron sometidos a un proceso de esterilización con etanol al 70% y peróxido de hidrógeno. Al finalizar este tratamiento, se observó que los tejidos mantenían su integridad estructural, sin evidencia de degradación, ruptura o cambio significativo en su morfología. El andamio conservó su aspecto semitranslúcido y su textura flexible, características esenciales para su manipulación posterior. No se observaron signos visibles de contaminación microbiana durante el periodo de almacenamiento en condiciones estériles (4 °C en solución antibiótica), lo que sugiere que el protocolo de esterilización fue efectivo. El tejido se

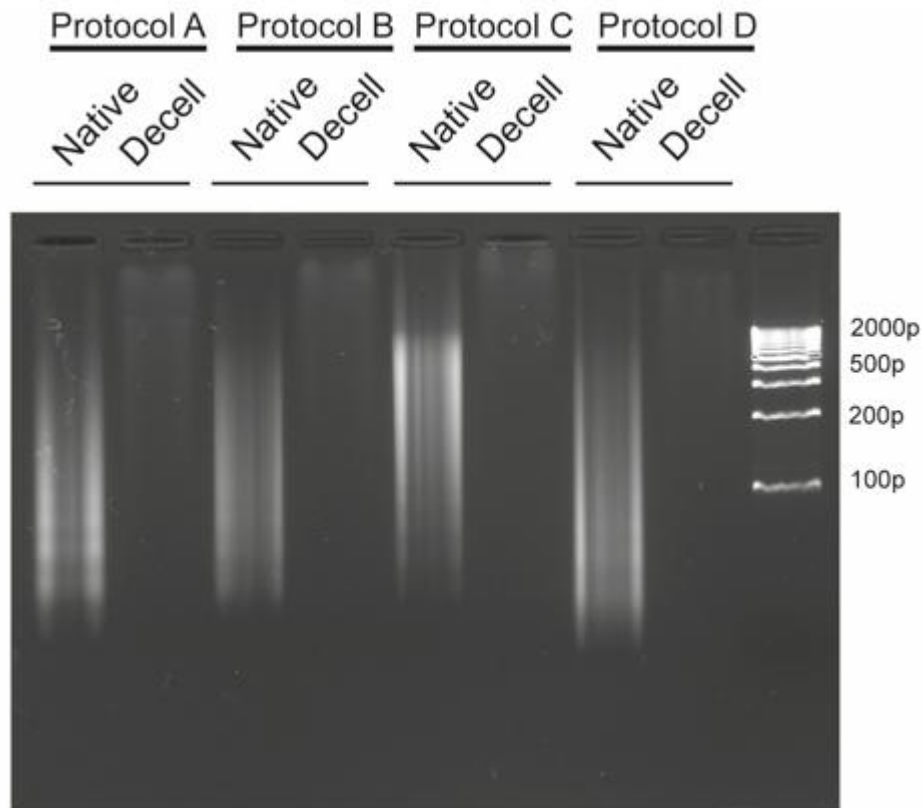
mantuvo estable hasta su uso en las etapas de caracterización y experimentación in vivo, sin cambios aparentes en color, olor o consistencia.

#### **4.2.2 Extracción de ADN**

#### **4.2.3 Análisis cualitativo de ADN (Electroforesis)**

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1% para evaluar cualitativamente la eficiencia de cuatro protocolos de descelularización en la remoción de material genético. Los protocolos evaluados fueron Protocolo A Rashtbar (columna 2), Protocolo B Duong (columna 4), Protocolo C Ginger (columna 6) y Protocolo D Singh (columna 8) como se puede ver en la (Figura 25). Las muestras de tejido nativo mostraron bandas intensas correspondientes a ADN de alto peso molecular, utilizadas como control positivo. En contraste, los cuatro protocolos descelularizantes presentaron diferencias notables en la intensidad de las bandas remanentes. El protocolo Rashtbar (columna 2) mostró una disminución parcial del contenido de ADN, evidenciada por la presencia de bandas aún visibles, aunque menos intensas que el control. El protocolo Duong (columna 4) mostró una mayor remoción del material genético, con bandas significativamente más tenues, lo que indica una mayor efectividad. El protocolo Singh (columna 8) también presentó bandas de ADN, con una intensidad similar a la observada en Rashtbar, lo que sugiere una eficiencia comparable. El protocolo Ginger (columna 6) fue el que presentó la menor señal de ADN visible, lo que sugiere que fue el protocolo más eficiente en la eliminación del material genético celular. En conjunto, los resultados del gel de agarosa indican que, de los protocolos evaluados, Ginger y Duong mostraron una remoción más efectiva

del ADN, mientras que Rashtbar y Singh presentaron niveles más altos de residuos genéticos.



*Figura 26. Electroforesis de agarosa*

#### **4.2.4 Análisis cuantitativo de ADN (Picogreen)**

El análisis cuantitativo del contenido de ADN residual en las muestras descelularizadas se llevó a cabo utilizando el ensayo fluorométrico PicoGreen®, y los resultados obtenidos permitieron comparar la eficacia de los distintos protocolos aplicados como se puede observar en la Figura 26. Como control, se incluyó una muestra de tejido nativo no tratado. La muestra nativa presentó una alta concentración de ADN, con un valor promedio de 1146,26 ng/mg, confirmando una carga genética elevada en el tejido

sin procesar. En contraste, los andamios descelularizados mostraron una reducción drástica del contenido de ADN, con resultados variables según el protocolo utilizado:

- Protocolo A - Rashtbar et al: 32,48 ng/mg
- Protocolo B - Duong et al: 6,67 ng/mg
- Protocolo C - Ginger et al: 2,98 ng/mg
- Protocolo D - Singh et al: 25,11 ng/mg

El protocolo C fue el más eficiente, con los niveles más bajos de ADN residual, seguido del protocolo B, que también alcanzó una remoción significativa. En comparación, el protocolo A y protocolo D presentaron valores mayores de ADN, aunque aun considerablemente inferiores al tejido nativo. En conjunto con los resultados cualitativos del gel de agarosa, estos datos confirman que los protocolos B y C ofrecen una descelularización más completa, logrando niveles de ADN residual compatibles con estándares aceptados en la literatura científica que es de <50 ng/mg de tejido seco.

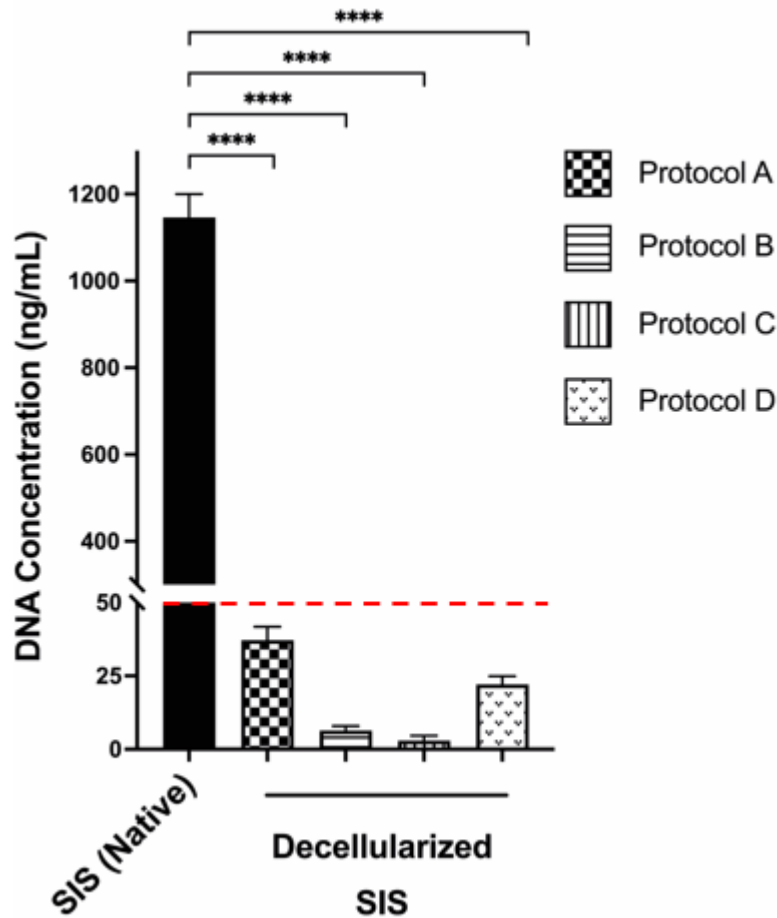


Figura 27. Gráfica PicoGreen

#### 4.2.5 Pruebas mecánicas





Se realizaron pruebas de tracción uniaxial en los parches descelularizados obtenidos mediante los cuatro protocolos evaluados. Los ensayos se efectuaron en un equipo Shimadzu AGS-J, registrándose los parámetros de área de sección transversal, tensión máxima, alargamiento absoluto y módulo aparente.

Los resultados que se pueden ver en la Figura 27 evidenciaron diferencias significativas en el comportamiento mecánico de los parches según el protocolo de descelularización empleado. El protocolo C presentó la mayor tensión máxima (4.09

MPa) y el módulo aparente más elevado (20.11 MPa), lo que indica una mayor resistencia y rigidez estructural. En contraste, el protocolo D mostró la mayor capacidad de deformación (alargamiento de 64.82 mm), reflejando una alta elasticidad, pero menor resistencia (1.42 MPa). Por su parte, el protocolo B alcanzó un módulo intermedio (8.81 MPa) con elongación limitada, mientras que el protocolo A presentó un comportamiento balanceado entre resistencia y deformabilidad.

	Protocol A	Protocol B	Protocol C	Protocol D
<b>UTS (MPa)</b>	1.60 ± 0.07	1.78 ± 0.05	4.10 ± 0.06	1.40 ± 0.09
<b>Elongation (mm)</b>	42.82 ± 0.03	12.10 ± 0.02	22.39 ± 0.03	64.81 ± 0.04
<b>E-modulus (MPa)</b>	4.49 ± 0.05	8.81 ± 0.07	20.11 ± 0.04	3.28 ± 0.06
<b>Cross-sectional area (mm<sup>2</sup>)</b>	4.02 ± 0.06	4.05 ± 0.07	3.67 ± 0.05	4.45 ± 0.08

<b>Transparency</b>				
---------------------	--	--	---	--

*Figura 28. Resultados de las pruebas mecánicas*

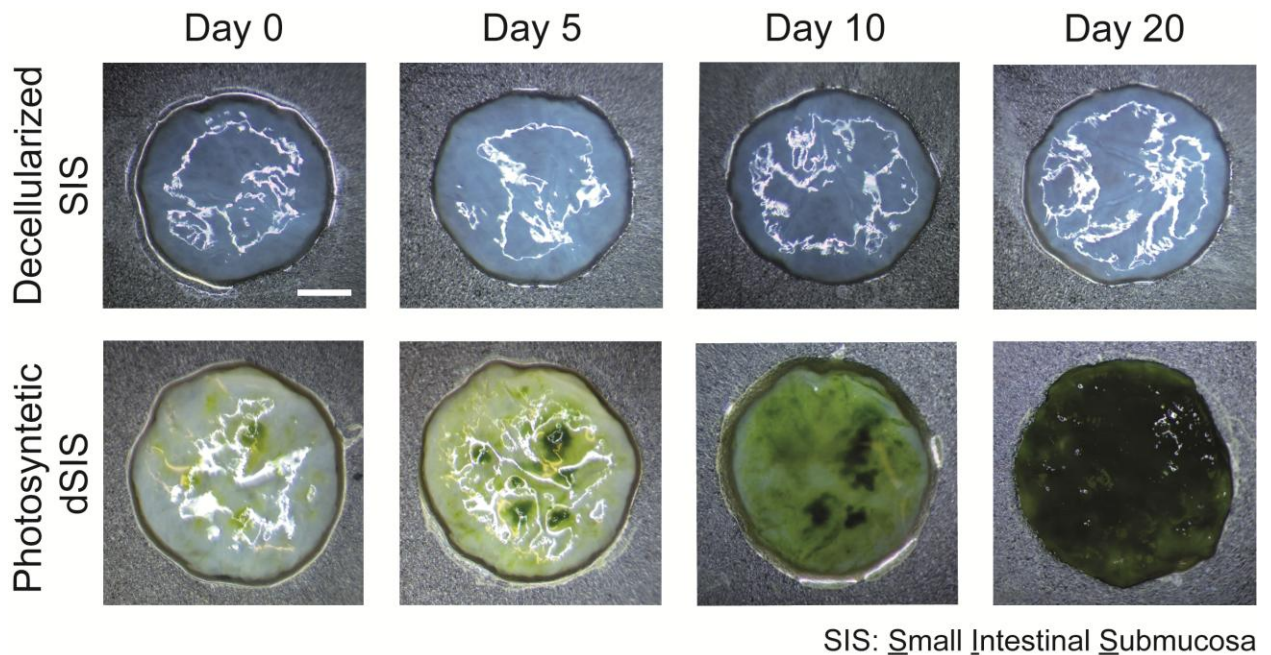
La evaluación cualitativa de la transparencia se realizó colocando una letra impresa debajo de cada muestra descelularizada. Se observó que los tejidos tratados con los diferentes protocolos presentaron distintos grados de transparencia visual. El protocolo C mostró la mayor transparencia, permitiendo distinguir con claridad las letras ubicadas debajo de la muestra, lo que sugiere una eliminación efectiva de los componentes celulares y una reducción del contenido de residuos opacos. En contraste, el protocolo B presentó una transparencia moderada, mientras que los protocolos A y D mostraron menor grado de claridad visual, dificultando la visualización de las letras. Estos resultados indican que la transparencia del tejido puede

correlacionarse con la eficiencia del proceso de descelularización, siendo el protocolo C el más efectivo en este aspecto.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los análisis de ADN y las pruebas mecánicas, se determinó que el protocolo C presentó el mejor balance entre una adecuada eliminación del material genético y una buena integridad estructural del tejido. Por lo tanto, se decidió utilizar este protocolo para las siguientes etapas del proyecto, incluyendo la integración de microalgas y la biocompatibilidad del biomaterial.

#### **4.3 Generación del andamio fotosintético**

Tras la obtención y caracterización del andamio descelularizado, se procedió a la generación del andamio fotosintético mediante la incorporación de microalgas vivas. Para ello, se utilizó la cepa de *Chlorella Vulgaris* cultivada en condiciones controladas, la cual fue sembrada directamente sobre la matriz descelularizada previamente hidratada. A las 72 horas de incubación, se observaron signos claros de adherencia de las microalgas a la superficie del andamio, especialmente en las regiones con textura más porosa. Las microalgas mostraron una distribución homogénea en la mayoría de las muestras, generando una coloración verde tenue sobre la matriz, lo cual fue indicativo de su viabilidad y actividad fotosintética. Durante los días posteriores, se mantuvo la incubación en condiciones de luz y temperatura adecuadas, observándose que las microalgas no solo permanecían adheridas al andamio, sino que además proliferaban gradualmente, formando una capa biológica más densa en algunas zonas (Figura 28). Este crecimiento progresivo sugiere que la matriz descelularizada proporcionó un entorno favorable para su colonización.



*Figura 29. Crecimiento gradual de las microalgas en el la submucosa descelularizada*

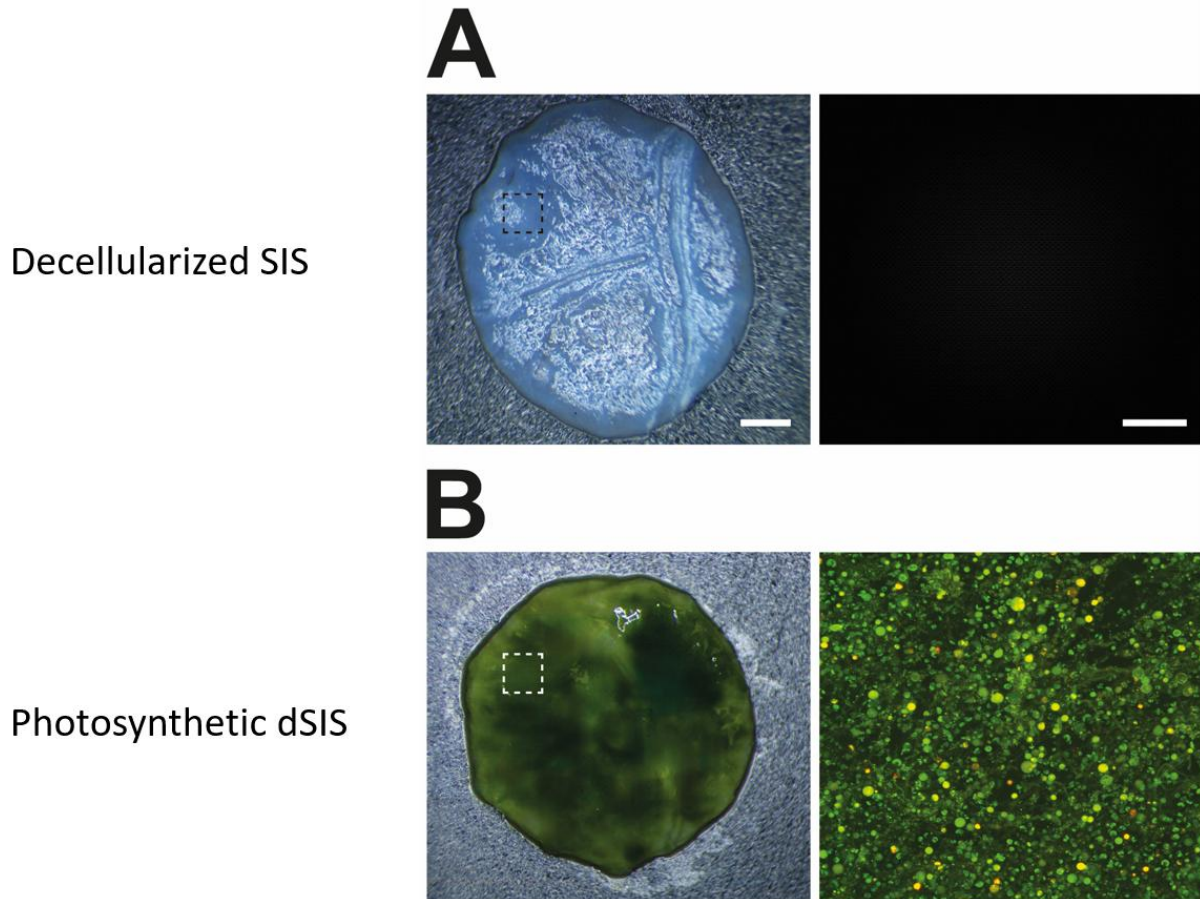
#### **4.3.1 Microscopía confocal de fluorescencia**

Las observaciones mediante microscopía confocal de fluorescencia (Olympus Fluoview FV3000) permitieron analizar y comparar la estructura del andamio descelularizado (control) y del andamio fotosintético (experimental).

En el apartado A de la Figura 29 tenemos el andamio descelularizado, en donde no se observó señal de fluorescencia, confirmando la ausencia de material biológico con autofluorescencia y evidenciando la eficacia del proceso de descelularización. En contraste, el andamio fotosintético en el apartado B de la Figura 29 mostró una emisión de fluorescencia verde intensa y homogénea, atribuida a la autofluorescencia natural de las microalgas al ser excitadas con luz azul.

Las imágenes confocales revelaron una distribución uniforme de las microalgas en la superficie del andamio, así como su penetración en distintos planos de profundidad, lo

cual se confirmó mediante reconstrucciones tridimensionales (Z-stack). Este patrón de distribución indica una adecuada integración y adhesión de las microalgas dentro de la matriz del tejido descelularizado.

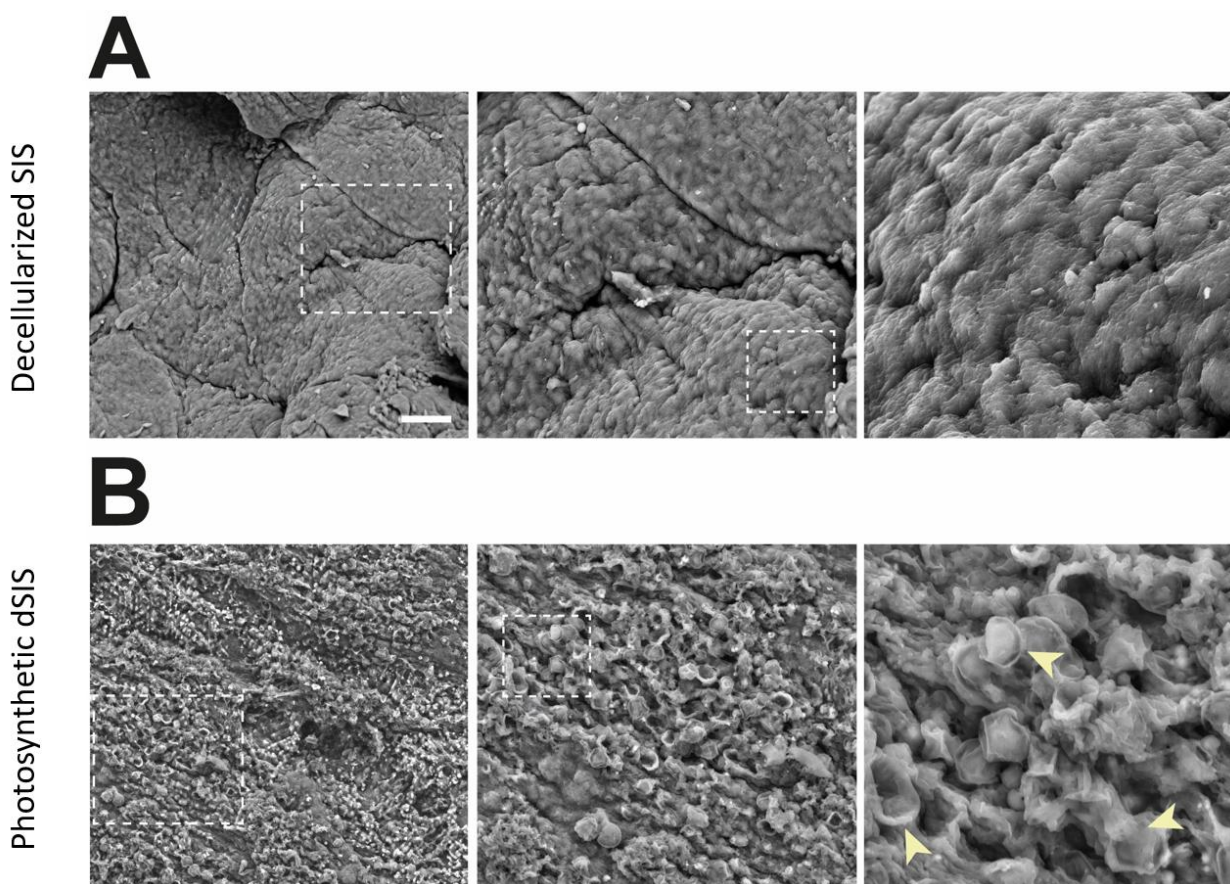


*Figura 30. Microscopía confocal de fluorescencia*

Asimismo, la persistencia de la señal fluorescente sugiere que las microalgas conservaron su viabilidad y actividad fotosintética durante el proceso de integración, demostrando la compatibilidad del andamio descelularizado como soporte biológico para el mantenimiento celular y el desarrollo de un sistema fotosintético funcional.

### 4.3.2 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La observación por microscopía electrónica de barrido (SEM) permitió comparar la estructura superficial de la submucosa intestinal descélularizada sin microalgas y la misma con microalgas incorporadas. En la sección superior de la Figura 30, se observa la submucosa intestinal descélularizada sin microalgas. En donde se aprecia una superficie con fibras colágenas bien definidas y una morfología característica de la matriz extracelular.



*Figura 31. Microscopía electrónica de barrido (SEM)*

Por otro lado, la sección inferior corresponde a la submucosa intestinal descélularizada con microalgas, en donde se puede observar que se mantiene la integridad de la matriz

extracelular; sin embargo, también se distinguen estructuras compatibles con la presencia de microalgas adheridas sobre la superficie del andamio.

### **4.3.3 Medición de oxígeno**

La medición de oxígeno permitió evaluar la capacidad fotosintética del andamio funcionalizado con microalgas. En la Figura 31 se observa la variación de la concentración de oxígeno (nmol/mL) a lo largo de 7 horas tanto para el andamio descelularizado (control) como para el andamio fotosintético.

El andamio control presentó una disminución progresiva de oxígeno con el tiempo, lo cual refleja el consumo del gas disuelto en ausencia de un sistema fotosintético activo. En contraste, el andamio fotosintético mostró un aumento sostenido de la concentración de oxígeno, alcanzando valores cercanos a 300 nmol/mL. Este incremento confirma la actividad fotosintética de las microalgas incorporadas y su capacidad para liberar oxígeno al medio, demostrando la funcionalidad del sistema fotosintético dentro del andamio descelularizado.

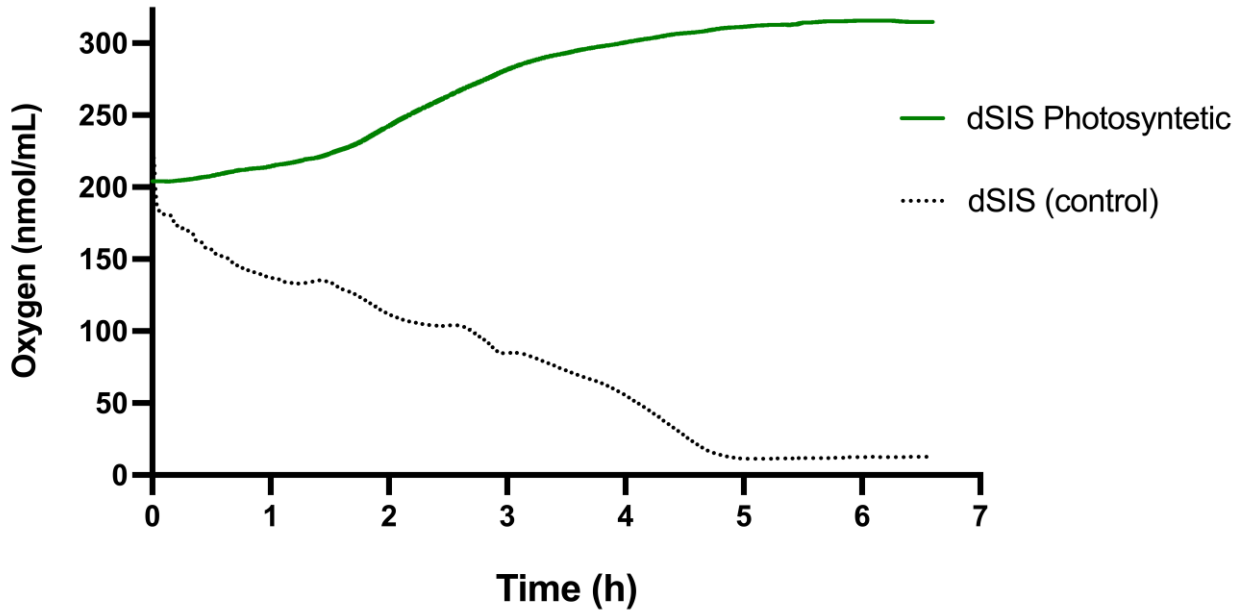


Figura 32. Medición de oxígeno

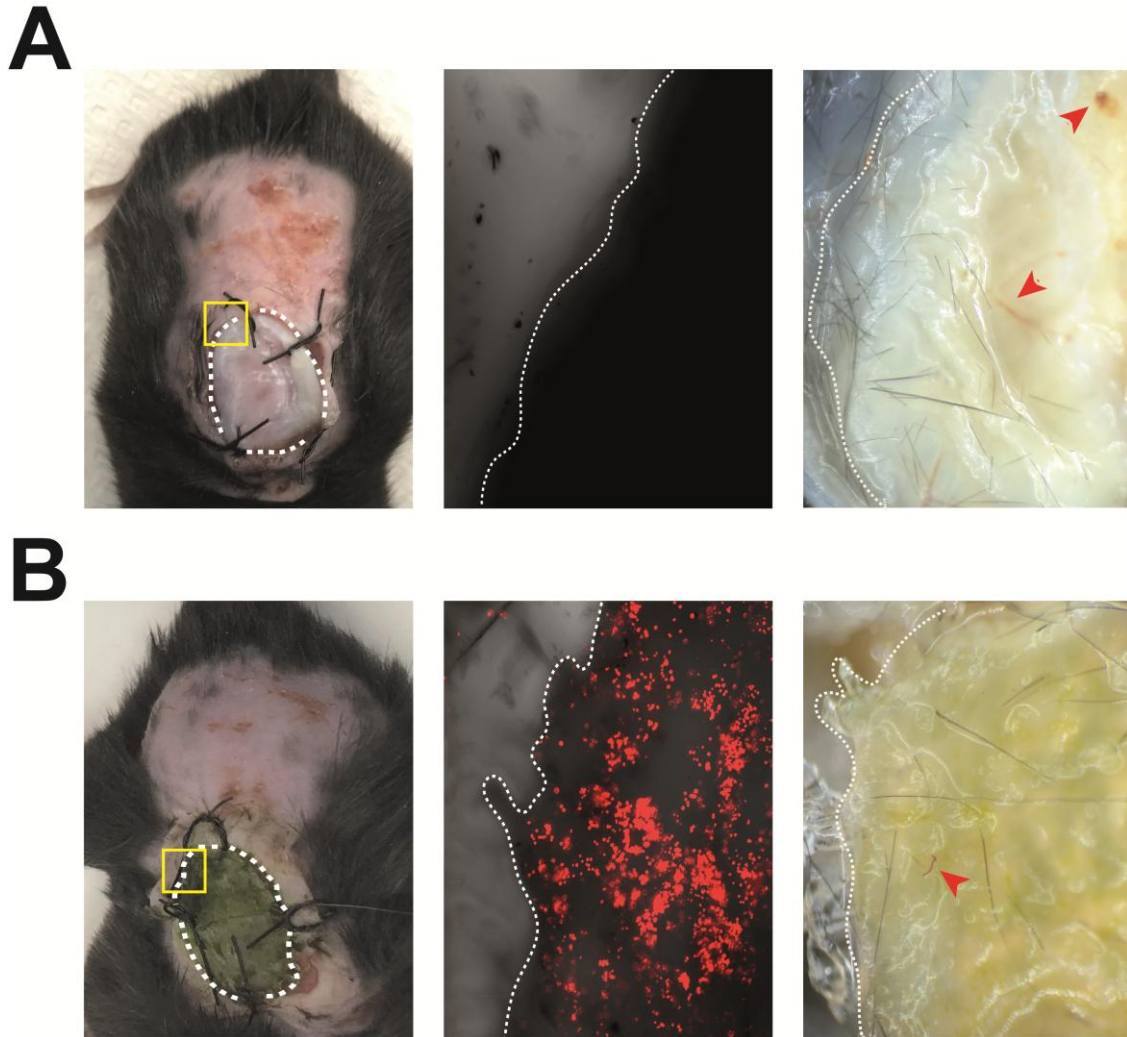
#### 4.4 Prueba de biocompatibilidad: Modelo murino

En el modelo murino se evaluó la respuesta biológica frente al andamio descelularizado (control) y al andamio fotosintético con microalgas. En la Figura 32, se observan las diferencias en la integración y comportamiento de ambos tipos de parches tras el periodo de implantación.

En el grupo control (A), correspondiente al andamio descelularizado sin microalgas, no se evidenció señal de fluorescencia, lo que confirma la ausencia de microalgas viables. Sin embargo, se observó una adecuada integración del material con el tejido circundante y signos iniciales de vascularización en el borde del implante.

En el grupo experimental (B), correspondiente al andamio fotosintético, se detectó una intensa señal de fluorescencia roja, indicativa de la presencia y viabilidad de las microalgas incluso al final del proceso de implantación. Además, se observó una mayor

vascularización y mejor integración tisular alrededor del parche, lo que sugiere una respuesta biológica favorable y un entorno adecuado para la regeneración del tejido.



*Figura 33. Evaluación in vivo de los andamios implantados en modelo murino*

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

---

### **Descelularización**

El proceso de descelularización del intestino delgado porcino permitió obtener una matriz extracelular (MEC) libre de material celular, conservando la integridad estructural y la organización fibrosa característica del tejido nativo. Los resultados observados, tanto por el cambio colorimétrico como por las pruebas de ADN, demostraron que los cuatro protocolos evaluados (Rashtbar, Duong, Singh y Ginger) fueron efectivos en la eliminación del contenido celular, aunque con variaciones en la apariencia final y el grado de preservación estructural del tejido.

El cambio colorimétrico evidente, de un tono rosado-rojizo en el tejido nativo a un color blanquecino y semitransparente tras la descelularización, fue un indicador visual del éxito del proceso. Este resultado concuerda con lo reportado por Singh et al. (2018) y Duong et al. (2020), quienes asociaron la pérdida del color con la eliminación de restos hemáticos y núcleos celulares, producto de la acción de los agentes químicos durante el tratamiento.

El protocolo A (Rashtbar et al., 2018) logró una eliminación celular completa, pero produjo una ligera pérdida de homogeneidad superficial y un aumento en la rigidez del tejido. Estos efectos pueden atribuirse al uso de concentraciones más altas de SDS y agentes iónicos, que si bien son eficaces para remover material celular, pueden alterar

la red colágena y reducir la elasticidad de la matriz. Resultados similares fueron descritos por (Rashtbar et al., 2018), quienes reportaron que tratamientos más agresivos tienden a modificar la estructura tridimensional y las propiedades mecánicas del andamio.

Por su parte, el protocolo B (Duong et al., 2024) también mostró una buena eficacia en la eliminación celular, aunque se observaron ligeras variaciones en la textura superficial del tejido. Este método combina detergentes y enzimas, lo que facilita la remoción del material biológico, pero puede afectar la hidratación y el equilibrio estructural de la matriz (Duong et al., 2024). Aun así, las muestras conservaron una apariencia estable y libre de residuos celulares, confirmando su eficiencia.

El protocolo D (Singh et al., 2022) presentó resultados satisfactorios en la eliminación del ADN y componentes celulares, aunque se evidenció una ligera pérdida de flexibilidad del tejido. Este comportamiento podría deberse al uso de concentraciones relativamente altas de SDS, las cuales pueden desnaturalizar parcialmente las proteínas estructurales. Según (Singh et al., 2022), este tipo de tratamiento es efectivo para lograr la completa eliminación celular, pero puede modificar la organización fibrilar del colágeno si no se controlan adecuadamente los tiempos de exposición.

En el caso del protocolo C (Abraham et al., 2000), basado en el uso secuencial de soluciones ácidas y básicas en lugar de detergentes, se observó una eliminación celular efectiva sin comprometer la integridad estructural del tejido. Este enfoque químico alternante permite romper enlaces entre componentes celulares y nucleares, manteniendo la estabilidad del colágeno y favoreciendo la preservación de la matriz.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por (Abraham et al., 2000), quienes demostraron que el empleo de agentes químicos suaves y la variación controlada del pH permiten lograr una descelularización eficiente preservando las propiedades mecánicas y bioquímicas del andamio. En este estudio, dicho protocolo mostró el mejor equilibrio entre la eliminación celular y la conservación estructural, lo que lo posiciona como el método más adecuado para la posterior incorporación de microalgas y el desarrollo del biomaterial fotosintético.

### **Generación del andamio fotosintético**

La generación del andamio fotosintético a partir del tejido porcino descelularizado representó un paso crucial en el desarrollo de un biomaterial con capacidad de liberar oxígeno y promover la regeneración cutánea. La integración de microalgas viables dentro de la matriz extracelular (MEC) permitió obtener un sistema híbrido biológico con propiedades funcionales que combinan soporte estructural y actividad fotosintética, lo cual constituye un enfoque innovador dentro del campo de la bioingeniería de tejidos.

Los resultados obtenidos evidenciaron que la matriz descelularizada del intestino delgado porcino proporcionó un entorno adecuado para la adhesión, distribución y supervivencia de las microalgas. La estructura fibrosa y porosa de la MEC facilitó la retención de los microorganismos, actuando como un reservorio tridimensional capaz de mantener condiciones microambientales favorables para su estabilidad. Este comportamiento es coherente con lo reportado por (Schenck et al., 2015) y (Chen et al., 2020), quienes demostraron que las matrices biológicas naturales permiten una

difusión eficiente de gases y nutrientes, favoreciendo la fotosíntesis y la viabilidad de las microalgas integradas.

La microscopía confocal de fluorescencia confirmó la presencia de una distribución homogénea y penetración profunda de las microalgas en el interior del andamio, además de una señal de autofluorescencia verde intensa, indicativa de su viabilidad. Este hallazgo respalda que las condiciones de incorporación no generaron daño físico ni químico en las microalgas, preservando su capacidad metabólica. De acuerdo con (Park et al., 2019), la conservación de la integridad fotosintética depende en gran medida de la compatibilidad entre el microambiente del andamio y los requerimientos fisiológicos de las microalgas, particularmente en lo relacionado con la luz, la humedad y la disponibilidad de CO<sub>2</sub>.

Asimismo, los resultados de medición de oxígeno demostraron que el andamio fotosintético presentó un aumento sostenido de la concentración de oxígeno en el medio, en contraste con el andamio descelularizado sin microalgas, que mostró una disminución gradual del gas disuelto. Este comportamiento confirma la actividad fotosintética funcional de las microalgas incorporadas, las cuales fueron capaces de transformar la energía lumínica en oxígeno utilizable. Este fenómeno concuerda con lo descrito por (Kang et al., 2019) y (Chen et al., 2020), quienes señalaron que los sistemas fotosintéticos basados en microalgas pueden compensar la hipoxia local en tejidos dañados, favoreciendo la regeneración y la cicatrización.

La capacidad del andamio para mantener microalgas viables sugiere que la matriz descelularizada no presentó efectos citotóxicos ni liberación de residuos químicos que

afectaran su crecimiento. Esto puede atribuirse a la naturaleza biocompatible del tejido porcino y al cuidadoso proceso de eliminación de detergentes o agentes químicos durante la fase de descelularización. Además, la morfología de la submucosa intestinal, rica en colágeno tipo I y fibras elásticas, contribuyó a la adherencia de las microalgas y al mantenimiento de su funcionalidad.

### **Biocompatibilidad en modelo murino**

En el modelo murino, la implantación del andamio fotosintético mostró resultados alentadores. La persistencia de la fluorescencia asociada a las microalgas evidenció su viabilidad in vivo, mientras que la aparición de vascularización alrededor del implante sugiere una respuesta tisular positiva. La formación de vasos sanguíneos puede relacionarse con la liberación local de oxígeno, que reduce la hipoxia en el sitio de implantación y estimula la angiogénesis, tal como ha sido descrito en estudios previos de (Schenck et al., 2015) y (Kang et al., 2019).

El desarrollo de este biomaterial demuestra que es posible combinar un soporte biológico natural con componentes vivos fotosintéticos para crear un sistema activo capaz de generar oxígeno directamente en el sitio de una lesión. Este enfoque presenta ventajas frente a los andamios convencionales, que dependen exclusivamente de la difusión pasiva del oxígeno desde los tejidos circundantes. Al incorporar microalgas, el biomaterial adquiere la capacidad de autoregular su microambiente, proporcionando una fuente interna y continua de oxígeno que puede mejorar la supervivencia celular y acelerar los procesos de regeneración cutánea.

Sin embargo, aún existen aspectos por optimizar. Factores como la densidad de microalgas, la intensidad lumínica, la durabilidad fotosintética a largo plazo y la posible respuesta inmune del huésped deben ser evaluados con mayor detalle para garantizar la estabilidad del sistema en aplicaciones clínicas. Además, estudios adicionales podrían explorar la co-cultivación con células dérmicas humanas para analizar la interacción entre ambos tipos de células y el posible impacto en la formación de nuevo tejido.

En conjunto, los resultados obtenidos en esta investigación evidencian que el andamio fotosintético desarrollado es funcional, biocompatible y capaz de generar oxígeno, representando una alternativa prometedora en el campo de la ingeniería de tejidos y terapias para heridas cutáneas crónicas. Su capacidad de mantener microalgas viables dentro de una matriz biológica sugiere que este enfoque puede ser una herramienta innovadora para el diseño de biomateriales inteligentes y activos, orientados a mejorar la oxigenación y la regeneración del tejido dañado.

## CONCLUSIONES

---

A partir del desarrollo experimental realizado en esta investigación, y considerando los resultados obtenidos en cada una de las etapas —descelularización del tejido, generación del andamio oxigénico e implementación del modelo murino—, se presentan a continuación las conclusiones principales del estudio. Estas conclusiones integran los hallazgos más relevantes y permiten evaluar el cumplimiento tanto del objetivo general como de los objetivos específicos planteados.

1. Se desarrolló exitosamente un parche oxigénico a partir de la submucosa intestinal de porcino y microalgas, obteniendo un biomaterial funcional capaz de generar oxígeno de manera sostenida y con potencial para el tratamiento de lesiones cutáneas crónicas.
2. El proceso de descelularización aplicado al intestino delgado porcino permitió obtener un andamio libre de material celular y con preservación de la matriz extracelular, evidenciado por los análisis microscópicos y colorimétricos, confirmando su integridad estructural y composición adecuada para aplicaciones biomédicas.
3. La incorporación de microalgas en el andamio descelularizado resultó en un sistema fotosintético estable, con una distribución homogénea y viable dentro de la matriz, demostrando la integración efectiva de las microalgas sin comprometer la estructura del material.
4. Las pruebas in vivo en modelo murino mostraron que el andamio oxigénico presenta buena biocompatibilidad y favorece la formación de nuevos vasos

sanguíneos en el sitio de implantación, lo que confirma su potencial para la regeneración de piel y su futura aplicación en el tratamiento de quemaduras o heridas crónicas.

## RECOMENDACIONES

---

1. Optimizar los parámetros del proceso de descelularización (concentraciones y tiempos de exposición a detergentes) para minimizar la pérdida de componentes estructurales de la matriz extracelular.
2. Realizar ensayos de cuantificación de colágeno, proteínas y ADN residual para fortalecer la caracterización bioquímica del andamio y validar la eficacia del proceso.
3. Evaluar la estabilidad a largo plazo de las microalgas dentro del andamio bajo diferentes condiciones de cultivo o exposición lumínica, a fin de determinar su rendimiento fotosintético sostenido.
4. Ampliar los estudios in vivo a períodos más prolongados para evaluar la evolución de la integración tisular, la vascularización y la respuesta inmunológica.
5. Considerar el desarrollo de ensayos funcionales adicionales (por ejemplo, pruebas de cicatrización o regeneración cutánea) que permitan validar la eficacia terapéutica del biomaterial fotosintético en modelos clínicamente relevantes.

## REFERENCIAS

---

- Abraham, G. A., Murray, J., Billiar, K., & Sullivan, S. J. (2000). Evaluation of the porcine intestinal collagen layer as a biomaterial. *Journal of Biomedical Materials Research*, 51(3).  
[https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20000905\)51:3<442::AID-JBM19>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20000905)51:3<442::AID-JBM19>3.0.CO;2-4)
- Abuzakuk, T. M., Coward, P., Shenava, Y., Kumar, V. S., & Skinner, J. A. (2006). The management of wounds following primary lower limb arthroplasty: A prospective, randomised study comparing hydrofibre and central pad dressings. *International Wound Journal*, 3(2).  
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4801.2006.00189.x>
- Akhtari, N., Ahmadi, M., Kiani Doust Vaghe, Y., Asadian, E., Behzad, S., Vatanpour, H., & Ghorbani-Bidkorpeh, F. (2024). Natural agents as wound-healing promoters. In *Inflammopharmacology* (Vol. 32, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s10787-023-01318-6>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2017). Molecular Biology of the Cell. In *Molecular Biology of the Cell*. <https://doi.org/10.1201/9781315735368>
- Alhajj, M., Bansal, P., & Goyal, A. (2020). Physiology, Granulation Tissue. In *StatPearls*.
- ALI, M. Q., HASAN, MD. S., MAHEDI, MD. R. A., BHUIYAN, MD. K. R., AFRIN, S., KHADKA, R. B., KOUSER, MD., ARECHE, F. O., REZA, R., & MIAH, S. (2022). A DESCRIPTIVE REVIEW ON MICROALGAE AND MICROALGAL COMPOUNDS WITH THEIR INTERACTIONS. *PLANT CELL BIOTECHNOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY*. <https://doi.org/10.56557/pcbmb/2022/v23i11-127529>
- Atala, A., Kurtis Kasper, F., & Mikos, A. G. (2012). Engineering complex tissues. In *Science Translational Medicine* (Vol. 4, Issue 160). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004890>
- Badylak, S. F. (2015). Host response to biomaterials: The impact of host response on biomaterial selection. In *Host Response to Biomaterials: The Impact of Host Response on Biomaterial Selection*.
- Badylak, S. F., Freytes, D. O., & Gilbert, T. W. (2015). Reprint of: Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function. In *Acta Biomaterialia* (Vol. 23, Issue S).  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.016>
- Badylak, S. F., Record, R., Lindberg, K., Hodde, J., & Park, K. (1998). Small intestinal submucosa: A substrate for in vitro cell growth. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 9(8).  
<https://doi.org/10.1163/156856298X00208>
- Ben-Porath, I., & Weinberg, R. A. (2005). The signals and pathways activating cellular senescence. In *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* (Vol. 37, Issue 5 SPEC. ISS.).  
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.10.013>
- Bielefeld, K. A., Amini-Nik, S., & Alman, B. A. (2013). Cutaneous wound healing: Recruiting developmental pathways for regeneration. In *Cellular and Molecular Life Sciences* (Vol. 70, Issue 12). <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1152-9>

- Blanpain, C., & Fuchs, E. (2009). Epidermal homeostasis: A balancing act of stem cells in the skin. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 10, Issue 3). <https://doi.org/10.1038/nrm2636>
- Bosman, F. T., & Stamenkovic, I. (2003). Functional structure and composition of the extracellular matrix. In *Journal of Pathology* (Vol. 200, Issue 4, pp. 423–428). J Pathol. <https://doi.org/10.1002/path.1437>
- Cárdenas-Calderón, C., Veloso-Giménez, V., González, T., Wozniak, A., García, P., Martín, S. S., Varas, J. F., Carrasco-Wong, I., Vera, M., & Egaña, J. T. (2022). Development of an implantable three-dimensional model of a functional pathogenic multispecies biofilm to study infected wounds. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25569-5>
- Cazzaniga, S., & Ballottari, M. (2023). Photosynthesis 2.0. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/ijms24054355>
- Chávez, M. N., Schenck, T. L., Hopfner, U., Centeno-Cerdas, C., Somlai-Schweiger, I., Schwarz, C., Machens, H. G., Heikenwalder, M., Bono, M. R., Allende, M. L., Nickelsen, J., & Egaña, J. T. (2016). Towards autotrophic tissue engineering: Photosynthetic gene therapy for regeneration. *Biomaterials*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.014>
- Chen, S., Luo, Y., He, Y., Li, M., Liu, Y., Zhou, X., Hou, J., & Zhou, S. (2024). In-situ-sprayed therapeutic hydrogel for oxygen-actuated Janus regulation of postsurgical tumor recurrence/metastasis and wound healing. *Nature Communications*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45072-x>
- Cheng, B., Jiang, Y., Fu, X., Hao, D., Liu, H., Liu, Y., Huang, Z., Tan, Q., Wang, L., Hu, D., Yang, Y., Han, C., Cheng, Z., Ran, X., & Li, Y. (2020). Epidemiological characteristics and clinical analyses of chronic cutaneous wounds of inpatients in China: Prevention and control. *Wound Repair and Regeneration*, 28(5). <https://doi.org/10.1111/wrr.12825>
- Chinnappan, M., & Harris-Tryon, T. A. (2021). Novel mechanisms of microbial crosstalk with skin innate immunity. In *Experimental Dermatology* (Vol. 30, Issue 10). <https://doi.org/10.1111/exd.14429>
- Chu, W.-L. (2012). Biotechnological applications of microalgae. *International E-Journal of Science, Medicine & Education*, 6(Suppl1). <https://doi.org/10.56026/imu.6.suppl1.s24>
- Colorado, A., Agudelo, A., & Moncada, M. (2013). Análisis de biomateriales para uso en ingeniería de tejido de piel: revisión. *Revista Ingeniería Biomédica*, 7(14).
- Constantinides, C., Mean, R., & Janssen, B. J. (2011). Effects of isoflurane anesthesia on the cardiovascular function of the C57BL/6 mouse. *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, 52(3).
- Corrales-Orovio, R., Castillo, V., Rozas, P., Schenck, T. L., & Egaña, J. T. (2023). Development of a Hibernation-Inspired Preservation Strategy to Enhance the Clinical Translation of Photosynthetic Biomaterials. *Advanced Therapeutics*, 6(12). <https://doi.org/10.1002/adtp.202300299>
- Crapo, P. M., Gilbert, T. W., & Badylak, S. F. (2011). An overview of tissue and whole organ decellularization processes. In *Biomaterials* (Vol. 32, Issue 12). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>

- Dawson, H. D., Chen, C., Gaynor, B., Shao, J., & Urban, J. F. (2017). The porcine translational research database: A manually curated, genomics and proteomics-based research resource. *BMC Genomics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4009-7>
- Eckhart, L., Lippens, S., Tschachler, E., & Declercq, W. (2013). Cell death by cornification. In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* (Vol. 1833, Issue 12). <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.06.010>
- Enoch, S., & Leaper, D. J. (2008). Basic science of wound healing. In *Surgery* (Vol. 26, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2007.11.005>
- Erickson, J. R., & Echeverri, K. (2018). Learning from regeneration research organisms: The circuitous road to scar free wound healing. In *Developmental Biology* (Vol. 433, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.09.025>
- Frantz, C., Stewart, K. M., & Weaver, V. M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *Journal of Cell Science*, 123(24), 4195. <https://doi.org/10.1242/JCS.023820>
- Freytes, D. O., Martin, J., Velankar, S. S., Lee, A. S., & Badylak, S. F. (2008). Preparation and rheological characterization of a gel form of the porcine urinary bladder matrix. *Biomaterials*, 29(11). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.12.014>
- Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*, 4(9). <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
- Fulenwider, H. D., Caruso, M. A., & Ryabinin, A. E. (2022). Manifestations of domination: Assessments of social dominance in rodents. In *Genes, Brain and Behavior* (Vol. 21, Issue 3). <https://doi.org/10.1111/gbb.12731>
- Gethin, G. (2012). Understanding the inflammatory process in wound healing. *British Journal of Community Nursing*, 17(3 SUPPL.). <https://doi.org/10.12968/bjcn.2012.17.sup3.s17>
- Gilbert, T. W., Sellaro, T. L., & Badylak, S. F. (2006). Decellularization of tissues and organs. In *Biomaterials* (Vol. 27, Issue 19). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.02.014>
- Gilpin, A., & Yang, Y. (2017). Decellularization Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications. In *BioMed Research International* (Vol. 2017). <https://doi.org/10.1155/2017/9831534>
- Guerrero-Juarez, C. F., & Plikus, M. V. (2018). Emerging nonmetabolic functions of skin fat. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 14, Issue 3). <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.162>
- Guo, S., & DiPietro, L. A. (2010). Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3). <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. In *Nature* (Vol. 453, Issue 7193). <https://doi.org/10.1038/nature07039>
- Hargis, A., Yaghi, M., Bermudez, N. M., & Gefen, A. (2024). Foam Dressings for Wound Healing. In *Current Dermatology Reports* (Vol. 13, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s13671-024-00422-2>

- Hodde, J. P., Badylak, S. F., Brightman, A. O., & Voytik-Harbin, S. L. (1996). Glycosaminoglycan content of small intestinal submucosa: A bioscaffold for tissue replacement. *Tissue Engineering*, 2(3). <https://doi.org/10.1089/ten.1996.2.209>
- Hohlbaum, K., Bert, B., Dietze, S., Palme, R., Fink, H., & Thöne-Reineke, C. (2017). Severity classification of repeated isoflurane anesthesia in C57BL/6JRj mice - Assessing the degree of distress. *PLoS ONE*, 12(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179588>
- Hopfner, U., Schenck, T. L., Chávez, M. N., Machens, H. G., Bohne, A. V., Nickelsen, J., Giunta, R. E., & Egaña, J. T. (2014). Development of photosynthetic biomaterials for in vitro tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 10(6). <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.055>
- Hurst, R. E., & Bonner, R. B. (2001). Mapping of the distribution of significant proteins and proteoglycans in small intestinal submucosa by fluorescence microscopy. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 12(11). <https://doi.org/10.1163/156856201753395798>
- Hussey, G. S., Keane, T. J., & Badylak, S. F. (2017). The extracellular matrix of the gastrointestinal tract: A regenerative medicine platform. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 14, Issue 9). <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.76>
- Ji, Y., Zhou, J., Sun, T., Tang, K., Xiong, Z., Ren, Z., Yao, S., Chen, K., Yang, F., Zhu, F., & Guo, X. (2019). Diverse preparation methods for small intestinal submucosa (SIS): Decellularization, components, and structure. In *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* (Vol. 107, Issue 3). <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36582>
- Karamanos, N. K., Theocharis, A. D., Piperigkou, Z., Manou, D., Passi, A., Skandalis, S. S., Vynios, D. H., Orian-Rousseau, V., Ricard-Blum, S., Schmelzer, C. E. H., Duca, L., Durbeej, M., Afratis, N. A., Troeberg, L., Franchi, M., Masola, V., & Onisto, M. (2021). A guide to the composition and functions of the extracellular matrix. *FEBS Journal*, 288(24), 6850–6912. <https://doi.org/10.1111/febs.15776>
- Karimi, K., Odhav, A., Kollipara, R., Fike, J., Stanford, C., & Hall, J. C. (2017). Acute cutaneous necrosis: A guide to early diagnosis and treatment. In *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery* (Vol. 21, Issue 5). <https://doi.org/10.1177/1203475417708164>
- Kasravi, M., Ahmadi, A., Babajani, A., Mazloomnejad, R., Hatamnejad, M. R., Shariatzadeh, S., Bahrami, S., & Niknejad, H. (2023). Immunogenicity of decellularized extracellular matrix scaffolds: a bottleneck in tissue engineering and regenerative medicine. In *Biomaterials Research* (Vol. 27, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s40824-023-00348-z>
- Kim, H. S., Sun, X., Lee, J. H., Kim, H. W., Fu, X., & Leong, K. W. (2019). Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 146). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.12.014>
- Kim, S. H., Turnbull, J., & Guimond, S. (2011). Extracellular matrix and cell signalling: The dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. In *Journal of Endocrinology* (Vol. 209, Issue 2, pp. 139–151). *J Endocrinol.* <https://doi.org/10.1530/JOE-10-0377>

- Kobayashi, T., Naik, S., & Nagao, K. (2019). Choreographing Immunity in the Skin Epithelial Barrier. In *Immunity* (Vol. 50, Issue 3). <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.02.023>
- Laurano, R., Boffito, M., Ciardelli, G., & Chiono, V. (2022). Wound dressing products: A translational investigation from the bench to the market. In *Engineered Regeneration* (Vol. 3, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2022.04.002>
- Lay, H. S., Cummins, G., Cox, B. F., Qiu, Y., Turcanu, M. V., McPhillips, R., Connor, C., Gregson, R., Clutton, E., Desmulliez, M. P. Y., & Cochran, S. (2019). In-Vivo Evaluation of Microultrasound and Thermometric Capsule Endoscopes. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 66(3). <https://doi.org/10.1109/TBME.2018.2852715>
- Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Knighton, D. R., Margolis, D. J., Percoraro, R. E., Rodeheaver, G., & Robson, M. C. (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair and Regeneration*, 2(3). <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1994.20305.x>
- Leeper, D. J. (2006). Silver dressings: Their role in wound management. In *International Wound Journal* (Vol. 3, Issue 4). <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2006.00265.x>
- Lindberg, K., & Badylak, S. F. (2001). Porcine small intestinal submucosa (SIS): A bioscaffold supporting in vitro primary human epidermal cell differentiation and synthesis of basement membrane proteins. *Burns*, 27(3). [https://doi.org/10.1016/S0305-4179\(00\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0305-4179(00)00113-3)
- Lindholm, C., & Searle, R. (2016). Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. *International Wound Journal*, 13. <https://doi.org/10.1111/iwj.12623>
- Liu, L., Pohnert, G., & Wei, D. (2016). Extracellular metabolites from industrial microalgae and their biotechnological potential. In *Marine Drugs* (Vol. 14, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/md14100191>
- Longar Blanco, M. del P., Velázquez García, L., & Rosado Córdoba, S. (2023). Biomateriales una alternativa de sustentabilidad. *Dilemas Contemporáneos: Educación, Política y Valores*. <https://doi.org/10.46377/dilemas.v11iespecial.3902>
- Loots, M. A. M., Lamme, E. N., Zeegelaar, J., Mekkes, J. R., Bos, J. D., & Middelkoop, E. (1998). Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. *Journal of Investigative Dermatology*, 111(5). <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00381.x>
- Lu, P., Weaver, V. M., & Werb, Z. (2012). The extracellular matrix: A dynamic niche in cancer progression. In *Journal of Cell Biology* (Vol. 196, Issue 4, pp. 395–406). *J Cell Biol*. <https://doi.org/10.1083/jcb.201102147>
- Luo, J. C., Chen, W., Chen, X. H., Qin, T. W., Huang, Y. C., Xie, H. Q., Li, X. Q., Qian, Z. Y., & Yang, Z. M. (2011). A multi-step method for preparation of porcine small intestinal submucosa (SIS). *Biomaterials*, 32(3). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.09.017>
- Madison, K. C. (2003). Barrier function of the skin: “La Raison d’Être” of the epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, 121(2). <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12359.x>

- Manou, D., Caon, I., Bouris, P., Triantaphyllidou, I. E., Giaroni, C., Passi, A., Karamanos, N. K., Vigetti, D., & Theocharis, A. D. (2019). The complex interplay between extracellular matrix and cells in tissues. *Methods in Molecular Biology*, 1952, 1–20. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9133-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9133-4_1)
- McCarty, S. M., & Percival, S. L. (2013). Proteases and Delayed Wound Healing. *Advances in Wound Care*, 2(8). <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0370>
- McPherson, T. B., & Badylak, S. F. (1998). Characterization of fibronectin derived from porcine small intestinal submucosa. *Tissue Engineering*, 4(1). <https://doi.org/10.1089/ten.1998.4.75>
- Mescher L, & Anthony. (2019). Junqueira’s Basic Histology: Text & Atlas. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 11, Issue 1).
- Mitchell, A. C., Briquez, P. S., Hubbell, J. A., & Cochran, J. R. (2016). Engineering growth factors for regenerative medicine applications. In *Acta Biomaterialia* (Vol. 30). <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.11.007>
- Mustoe, T. (2004). Understanding chronic wounds: A unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *American Journal of Surgery*, 187(5 SUPPL. 1). [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(03\)00306-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(03)00306-4)
- Nherera, L. M., Romanelli, M., Trueman, P., & Dini, V. (2017). An overview of clinical and health economic evidence regarding porcine small intestine submucosa extracellular matrix in the management of chronic wounds and burns. *Ostomy Wound Management*, 63(12).
- Norahan, M. H., Pedroza-González, S. C., Sánchez-Salazar, M. G., Álvarez, M. M., & Trujillo de Santiago, G. (2023). Structural and biological engineering of 3D hydrogels for wound healing. In *Bioactive Materials* (Vol. 24). <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.11.019>
- Nyström, A., & Bruckner-Tuderman, L. (2019). Matrix molecules and skin biology. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 89). <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.07.025>
- Palmosi, T., Tolomeo, A. M., Cirillo, C., Sandrin, D., Sciro, M., Negrisolo, S., Todesco, M., Caicci, F., Santoro, M., Dal Lago, E., Marchesan, M., Modesti, M., Bagno, A., Romanato, F., Grumati, P., Fabozzo, A., & Gerosa, G. (2022). Small intestinal submucosa-derived extracellular matrix as a heterotopic scaffold for cardiovascular applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1042434>
- Parmaksiz, M., Elçin, A. E., & Elçin, Y. M. (2018). Decellularization of bovine small intestinal submucosa. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1577). [https://doi.org/10.1007/7651\\_2017\\_33](https://doi.org/10.1007/7651_2017_33)
- Prather, R. S., Lorson, M., Ross, J. W., Whyte, J. J., & Walters, E. (2013). Genetically engineered pig models for human diseases. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103715>
- Prevel, C. D., Eppley, B. L., Summerlin, D. J., Sidner, R., Jackson, J. R., McCarty, M., & Badylak, S. F. (1995). Small intestinal submucosa: Utilization as a wound dressing in full- thickness rodent wounds. *Annals of Plastic Surgery*, 35(4). <https://doi.org/10.1097/0000637-199510000-00009>

- Pruitt, B. A., & Levine, N. S. (1984). Characteristics and Uses of Biologic Dressings and Skin Substitutes. *Archives of Surgery*, *119*(3). <https://doi.org/10.1001/archsurg.1984.01390150050013>
- Rashtbar, M., Hadjati, J., Ai, J., Jahanzad, I., Azami, M., Shirian, S., Ebrahimi-Barough, S., & Sadroddiny, E. (2018). Characterization of decellularized ovine small intestine submucosal layer as extracellular matrix-based scaffold for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, *106*(3). <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33899>
- Sato, T., Stange, D. E., Ferrante, M., Vries, R. G. J., Van Es, J. H., Van Den Brink, S., Van Houdt, W. J., Pronk, A., Van Gorp, J., Siersema, P. D., & Clevers, H. (2011). Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium. *Gastroenterology*, *141*(5). <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.07.050>
- Schenck, T. L., Chávez, M. N., Condurache, A. P., Hopfner, U., Rezaeian, F., Machens, H. G., & Egaña, J. T. (2014). A full skin defect model to evaluate vascularization of biomaterials in vivo. *Journal of Visualized Experiments*, *90*. <https://doi.org/10.3791/51428>
- Schenck, T. L., Hopfner, U., Chávez, M. N., Machens, H. G., Somlai-Schweiger, I., Giunta, R. E., Bohne, A. V., Nickelsen, J., Allende, M. L., & Egaña, J. T. (2015). Photosynthetic biomaterials: A pathway towards autotrophic tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, *15*. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.12.012>
- Schreml, S., Szeimies, R. M., Prantl, L., Karrer, S., Landthaler, M., & Babilas, P. (2010). Oxygen in acute and chronic wound healing. In *British Journal of Dermatology* (Vol. 163, Issue 2). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09804.x>
- Schultz, G. S., & Wysocki, A. (2009). Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. In *Wound Repair and Regeneration* (Vol. 17, Issue 2). <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00466.x>
- Sedighi, M., Namdari, M., Mahmoudi, P., Khani, A., Manouchehri, A., & Anvari, M. (2023). An Overview of Angiogenesis and Chemical and Physiological Angiogenic Factors: Short Review. In *Journal of Chemical Health Risks* (Vol. 13, Issue 3). <https://doi.org/10.22034/jchr.2022.1932834.1326>
- Sen, C. K., Gordillo, G. M., Roy, S., Kirsner, R., Lambert, L., Hunt, T. K., Gottrup, F., Gurtner, G. C., & Longaker, M. T. (2009). Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy: PERSPECTIVE ARTICLE. In *Wound Repair and Regeneration* (Vol. 17, Issue 6). <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x>
- Shpichka, A., Butnaru, D., Bezrukov, E. A., Sukhanov, R. B., Atala, A., Burdukovskii, V., Zhang, Y., & Timashev, P. (2019). Skin tissue regeneration for burn injury. In *Stem Cell Research and Therapy* (Vol. 10, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1203-3>
- Simpson, C. L., Patel, D. M., & Green, K. J. (2011). Deconstructing the skin: Cytoarchitectural determinants of epidermal morphogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *12*(9). <https://doi.org/10.1038/nrm3175>

- Singh, H., Purohit, S. D., Bhaskar, R., Yadav, I., Gupta, M. K., & Mishra, N. C. (2022). Development of decellularization protocol for caprine small intestine submucosa as a biomaterial. *Biomaterials and Biosystems*, 5. <https://doi.org/10.1016/j.bbiosy.2021.100035>
- Takahashi, A. (2021). Toward Understanding the Sex Differences in the Biological Mechanism of Social Stress in Mouse Models. *Frontiers in Psychiatry*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.644161>
- Theocharis, A. D., Gialeli, C., Bouris, P., Giannopoulou, E., Skandalis, S. S., Aletras, A. J., Iozzo, R. V., & Karamanos, N. K. (2014). Cell-matrix interactions: Focus on proteoglycan-proteinase interplay and pharmacological targeting in cancer. In *FEBS Journal* (Vol. 281, Issue 22, pp. 5023–5042). NIH Public Access. <https://doi.org/10.1111/febs.12927>
- Theocharis, A. D., & Karamanos, N. K. (2019). Proteoglycans remodeling in cancer: Underlying molecular mechanisms. In *Matrix Biology* (Vols. 75–76, pp. 220–259). Matrix Biol. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.10.008>
- Theocharis, A. D., Skandalis, S. S., Gialeli, C., & Karamanos, N. K. (2016). Extracellular matrix structure. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 97, pp. 4–27). Adv Drug Deliv Rev. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.11.001>
- Theocharis, A., Gialeli, C., Hascall, V., & Karamanos, N. K. (2012). Extracellular matrix: A functional scaffold. *Extracellular Matrix: Pathobiology and Signaling*, 3–19. <https://doi.org/10.1515/9783110258776.3>
- Thomas, S. (2008). Hydrocolloid dressings in the management of acute wounds: A review of the literature. In *International Wound Journal* (Vol. 5, Issue 5). <https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2008.00541.x>
- Usui, M. L., Underwood, R. A., Mansbridge, J. N., Muffley, L. A., Carter, W. G., & Olerud, J. E. (2005). Morphological evidence for the role of suprabasal keratinocytes in wound reepithelialization. *Wound Repair and Regeneration*, 13(5). <https://doi.org/10.1111/j.1067-1927.2005.00067.x>
- Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms. In *Journal of International Medical Research* (Vol. 37, Issue 5). <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
- Voytik-Harbin, S. L., Brightman, A. O., Kraine, M. R., Waisner, B., & Badylak, S. F. (1997). Identification of extractable growth factors from small intestinal submucosa. *Journal of Cellular Biochemistry*, 67(4). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4644\(19971215\)67:4<478::AID-JCB6>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4644(19971215)67:4<478::AID-JCB6>3.0.CO;2-P)
- Wagner, W. R., Sakiyama-Elbert, S. E., Zhang, G., & Yaszemski, M. J. (2020). Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. In *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-02323-6>
- Ward, J., Holden, J., Grob, M., & Soldin, M. (2019). Management of wounds in the community: Five principles. *British Journal of Community Nursing*, 24. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2019.24.Sup6.S20>
- Williams, D. F. (2009). On the nature of biomaterials. *Biomaterials*, 30(30). <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.027>

- WILLIAMS, R. W., MASON, L. B., & BRADSHAW, H. H. (1950). Factors affecting wound healing. *Surgical Forum*. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- World Union of Wound Healing Societies (WUWHS). (2007). Principles of best practice: Wound exudate and the role of dressings. A consensus document. *London: MEP Ltd*.
- Wosgrau, A. C. C., Da Silva Jeremias, T., Leonardi, D. F., Pereima, M. J., Di Giunta, G., & Trentin, A. G. (2015). Comparative experimental study of wound healing in mice: Pelnac versus integra. *PLoS ONE*, *10*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120322>
- Wu, Y. K., Cheng, N. C., & Cheng, C. M. (2019). Biofilms in Chronic Wounds: Pathogenesis and Diagnosis. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 37, Issue 5). <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2018.10.011>
- Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. In *Immunity* (Vol. 44, Issue 3). <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.015>
- Xue, M., & Jackson, C. J. (2015). Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Advances in Wound Care*, *4*(3). <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0485>
- Yao, Z., Huang, Y., Luo, G., Wu, J., & He, W. (2014). A biological membrane-based novel excisional wound-splinting model in mice (With video). *Burns and Trauma*, *2*(4). <https://doi.org/10.4103/2321-3868.143625>
- Yi, J. S., Lee, H. J., Lee, H. J., Lee, I. W., & Yang, J. H. (2013). Rat peripheral nerve regeneration using nerve guidance channel by porcine small intestinal submucosa. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, *53*(2). <https://doi.org/10.3340/jkns.2013.53.2.65>
- Zhang, Q., Johnson, J. A., Dunne, L. W., Chen, Y., Iyanki, T., Wu, Y., Chang, E. I., Branch-Brooks, C. D., Robb, G. L., & Butler, C. E. (2016). Decellularized skin/adipose tissue flap matrix for engineering vascularized composite soft tissue flaps. *Acta Biomaterialia*, *35*. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.02.017>
- Zhang, Y., Xu, J., Chai, Y., Zhang, J., Hu, Z., & Zhou, H. (2019). Nano-silver modified porcine small intestinal submucosa for the treatment of infected partial-thickness burn wounds. *Burns*, *45*(4). <https://doi.org/10.1016/j.burns.2018.12.002>
- Zhou, S., Wang, W., Zhou, S., Zhang, G., He, J., & Li, Q. (2019). A Novel Model for Cutaneous Wound Healing and Scarring in the Rat. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *143*(2). <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000005274>



## ANEXOS

Panamá, 18 de octubre de 2025

**SEÑORES**  
**UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ**  
**E. S. D.**

**Estimados señores:**

La suscrita notifica haber revisado, por solicitud del estudiante Carlos Enrique Adams Quintana, con cédula de identidad personal número 3-748-711, el proyecto final de investigación titulado "DESARROLLO DE UN APÓSITO DE SUBMUCOSA INTESTINAL DESCELULARIZADA Y MICROALGAS COMO TRATAMIENTO PARA LESIONES CUTÁNEAS CRÓNICAS", y, a su vez, doy fe de que el documento cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español.

Atentamente,



**Tarahy Tinoco de Ortega**

Cédula de identidad: 8-749-1065





SEDE CENTRAL

**FORMULARIO DE ENTREGA DE PROYECTO FINAL DE GRADUACIÓN**

*Nota: Llenar este formulario a máquina de escribir. Entregar este formulario junto con el Proyecto Final de Graduación y los Paz y Salvo*

Por este medio, notifico que el Proyecto Titulado: "DESARROLLO DE UN APÓSITO DE SUBMUCOSA INTESTINAL DESCELULARIZADA Y MICROALGAS COMO TRATAMIENTO PARA LESIONES CUTÁNEAS CRÓNICAS".

Correspondiente al estudiante: Carlos Adams

De la carrera: Ingeniería Biomédica e Instrumentación

Doy fe que he revisado y autorizado la entrega del Proyecto Final de Graduación (Documento Final), a Secretaría Académica, por reunir los requisitos y acatamientos exigidos por la Universidad Latina de Panamá y sugiere se le asigne la fecha para su defensa oral (sustentación).

**Autorización del Director del Proyecto Final de Graduación:**

Nombre del Profesor Director: Diego Reginensi

Firma de Autorización:

Teléfono: +507 6071-9938

**Autorización del Profesor responsable del Curso Proyecto Final de Graduación:**

Nombre del Profesor: Alfredo Lescher

Firma de Autorización:

Teléfono: +507 6126-3467

**En caso de revisión de un Profesor de Español**

Notifico que doy fe de que el documento cumple satisfactoriamente con todos los requisitos formales de ortografía y de redacción exigidos por el idioma español.

Nombre del Profesor de Español: Tarahy Tinoco

Autorización



Firma del Estudiante:  Fecha de Entrega

Recibido por \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_