



TÍTULO: Bioingeniería aplicada a la regeneración de órganos. Obtención de un “scaffold* renal.

PROFESOR RESPONSABLE: Pedro Aljama García

MACROÁREA DE CONOCIMIENTO: Ciencias de la Salud

RESUMEN: (200 palabras)

Se obtendrán quirúrgicamente riñones de animales de laboratorio, los cuales se perfundirán con diferentes reactivos detergentes para conseguir la descélularización total del órgano. Para ello se establecerán diferentes condiciones de perfusión mediante bombas de infusión, configuradas como biorreactores. Una vez conseguidos los scaffolds, se comprobará la ausencia total de estructuras celulares y su viabilidad biológica para ser “sembrados” con células progenitoras que potencialmente, en su desarrollo, inicien la regeneración de estructuras propias del riñón.

* Scaffold: matriz extracelular estructural de un órgano



PROFESORES PARTICIPANTES:

NOMBRE: Pedro Aljama García
CARGO: coIP IMIBIC
DEPARTAMENTO: Medicina
FACULTAD: Medicina y Enfermería
CONTACTO: pedro.aljama@uco.es

NOMBRE: Fátima Guerrero Pavón
CARGO: Investigadora postdoc IMIBIC
DEPARTAMENTO: Medicina
FACULTAD: Medicina y Enfermería
CONTACTO: fguerreropavon83@hotmail.com

NOMBRE: Teresa Obrero Sojo
CARGO: Investigadora predoc IMIBIC
DEPARTAMENTO: Medicina
FACULTAD: Medicina y Enfermería
CONTACTO: teresa_18_4@hotmail.es

NOMBRE: Andrés Carmona Muñoz
CARGO: Investigador postdoc
DEPARTAMENTO: Medicina
FACULTAD: Medicina y Enfermería
CONTACTO: carmonacarpio29@hotmail.com

NOMBRE: Ana Martínez López
CARGO: Residente 4^º año
DEPARTAMENTO: Anatomía Patológica
FACULTAD: Medicina y Enfermería
CONTACTO: ardimarlo2@gmail.com



OBJETIVOS:

1. Conseguir un método reproducible que produzca scaffolds renales de rata, completamente acelulares y de forma seriada.
2. Considerar las variables metodológicas relevantes que eventualmente influyen en la generación de diferentes tipos biológicos de scaffolds.
3. Estudiar la estructura histológica particular de los scaffolds en relación a la histología del riñón natural.
4. Comprobar que los scaffolds conseguidos son biológicamente activos, aún en ausencia completa de elementos celulares.
5. Señalar alguna proteína “crítica”, contenida en la estructura del scaffold, necesaria para dirigir y modular el proceso de regeneración del riñón, a partir de la perfusión de células progenitoras.



RECURSOS: (Aulas, laboratorios, equipamiento)

Los propios del Laboratorio de Nefrología del IMIBIC; además de:

- Set-up experimental propio de generación de scaffolds de riñón.
- Sala de cultivos
- Laboratorio de Anatomía Patológica



DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD: (Máximo 5 hojas)

Cronograma detallado de la actividad

Primera sesión

Presentación del proyecto por parte de los Profesores responsables del proyecto.

Segunda sesión

Lugar: Laboratorio de Nefrología. IMIBIC

Objetivos: Constituir un scaffold renal

Recursos y consumibles necesarios: los habituales del proyecto

Actividades que desarrollar: Ser el primer ayudante quirúrgico de la nefrectomía

Tercera sesión

Lugar: igual

Objetivos: sembrar el scaffold constituido el día previo

Recursos y consumibles necesarios: igual

Actividades que desarrollar: Montar una bomba de perfusión "simulada"

Cuarta sesión

Lugar: igual

Objetivos: tratar y manipular el biorreactor de siembra

Recursos y consumibles necesarios: igual

Actividades a desarrollar: Preparar un biorreactor de recularización

Quinta sesión

Los alumnos participarán primero en una sesión específica en las que se les enseñará a tratar, analizar y presentar los resultados obtenidos de acuerdo con el método científico. Posteriormente, en formato powerpoint, los alumnos presentarán al resto de participantes



los resultados obtenidos en su trabajo, comentando sus impresiones sobre la experiencia desarrollada.

Día	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
P L A N	Inauguración campus Presentación Proyectos	Aprender a realizar una nefrectomía	Aprender a sembrar un scaffold	Preparar un bioreactor de regularización	Trabajo en aula convencional y/o de informática
O B J E T O	Organización de los grupos de trabajo	Scaffold	Siembra	Biorreactor	Aprender a tratar, analizar y presentar los resultados



REFERENCIAS:

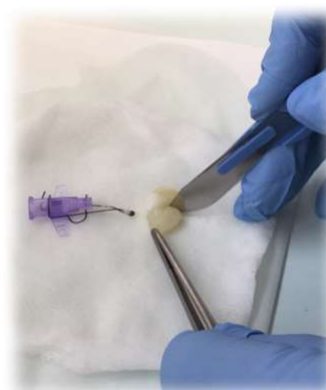
<http://www.scirp.org/journal/jbise> J. Biomedical Science and Engineering,
2017, Vol. 10, (No. 11), pp: 509-526

Relevance of Protein Content within the Renal Scaffold for Kidney Bioengineering and Regeneration

Fatima Guerrero¹, Andres Carmona¹, Rosa Ortega^{1,2}, Sagrario Cañadillas^{1,3}, Rodolfo Crespo^{4,5},
Concha Herrera^{1,3,5,6}, Pedro Aljama^{1,4,5,7}

¹Maimonides Institute of Biomedical Research of Cordoba, Cordoba, Spain; ²Anatomical Pathology Service, Reina Sofia University Hospital, Cordoba, Spain; ³Cellular Therapy Unit, Reina Sofia University Hospital, Cordoba, Spain; ⁴Department of Nephrology, Nephrology Service, Reina Sofia University Hospital, Cordoba, Spain; ⁵University of Cordoba, Cordoba, Spain; ⁶Hematology Department, Reina Sofia University Hospital, Cordoba, Spain; ⁷RETICs Red Renal, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

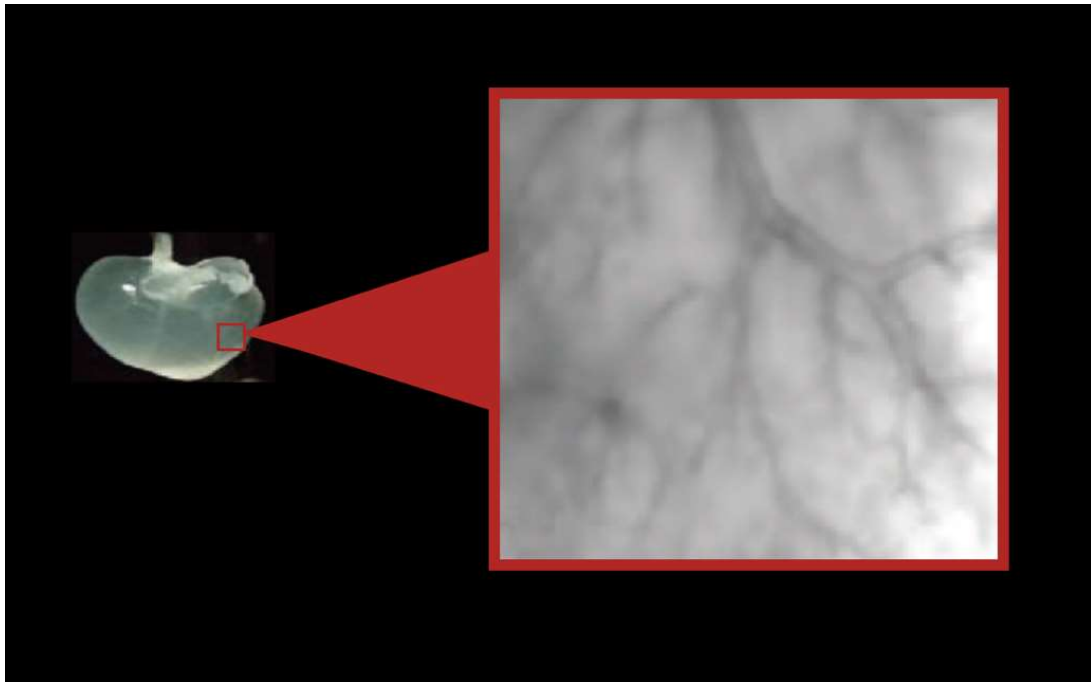
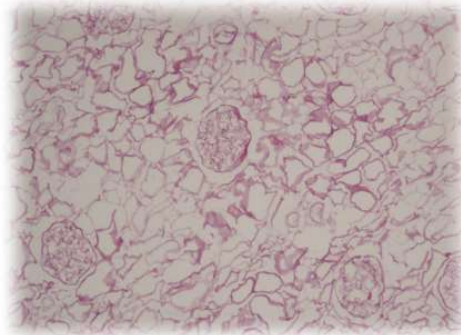
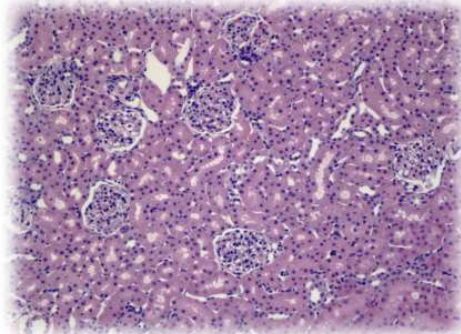
Descelularización:





Descelularización:

H-E

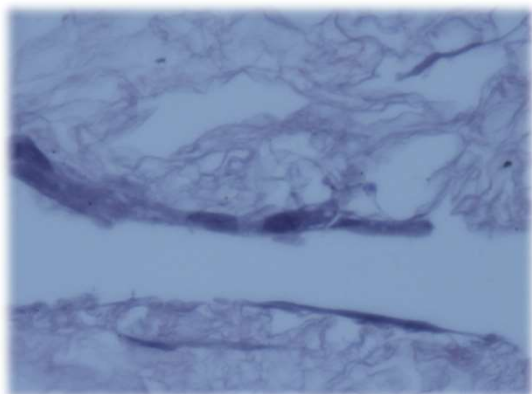




Recelularización

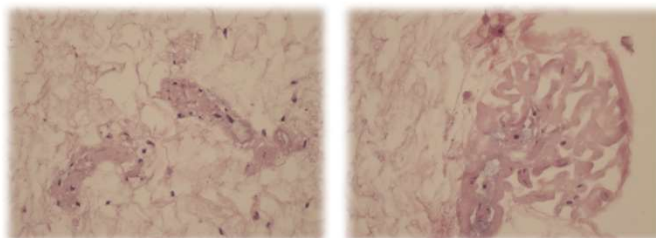


Recellularization of well-preserved rat acellular kidney scaffold sections using h-MSC



Recellularization: Bioreactor 7 days

PAS



1. Li, Q., Uygun, B.E., Geerts, S., Oze, S., Scalf, M., Gilpin, S.E., et al. (2016) Proteomic Analysis of Natural- ly-Sourced Biological Scaffolds. *Biomaterials*, 75, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.011>
2. Rusconi, F., Valton, E., Nguyen, R. and Dufourc, E. (2001) Quantification of Sodium Dodecyl Sulfate in Micro- liter-Volume Biochemical Samples by Visible Light Spectroscopy. *Analytical Biochemistry*, 295, 31-37. <https://doi.org/10.1006/abio.2001.5164>



3. Vowinckel, J., Capuano, F., Campbell, K., Deery, M.J., Lilley, K.S. and Ralser, M. (2013) The Beauty of Being (label)-Free: Sample Preparation Methods for SWATH-MS and Next-Generation Targeted Proteomics. *F1000Research*, 2, 272. <https://doi.org/10.12688/f1000research.2-272.v2>
4. Wang, Y., Bao, J., Wu, Q., Zhou, Y., Li, Y., Wu, X., et al. (2015) Method for Perfusion Decellularization of Porcine Whole Liver and Kidney for Use as a Scaffold for Clinical-Scale Bioengineering Engrafts. *Xenotransplantation*, 22, 48-61. <https://doi.org/10.1111/xen.12141>
5. Destefani, A.C., Sirtoli, G.M. and Nogueira, B.V. (2017) Advances in the Knowledge about Kidney Decellularization and Repopulation. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 5, 34. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00034>
6. Samouillan, V., Dandurand-Lods, J., Lamure, A., Maurel, E, Lacabanne, C., Gerosa, G., et al. (1999) Thermal Analysis Characterization of Aortic Tissues for Cardiac Valve Bioprostheses. *Journal of Biomedical Materials Research*, 46, 531-538. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(19990915\)46:4<531::AID-JBM11>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(19990915)46:4<531::AID-JBM11>3.0.CO;2-2)
7. Woods, T. and Gratzner, P.F. (2005) Effectiveness of Three Extraction Techniques in the Development of a Decellularized Bone-Anterior Cruciate Ligament-Bone Graft. *Biomaterials*, 26, 7339-7349. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.05.066>
8. Ren, H., Shi, X., Tao, L., Xiao, J., Han, B., Zhang, Y., et al. (2013) Evaluation of Two Decellularization Methods in the Development of a Whole-Organ Decellularized Rat Liver Scaffold. *Liver International*, 33, 448-458. <https://doi.org/10.1111/liv.12088>
9. Ross, E.A., Williams, M.J., Hamazaki, T., Terada, N., Clapp, W.L., Adin, C., et al. (2009) Embryonic Stem Cells Proliferate and Differentiate When Seeded into Kidney Scaffolds. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20, 2338-2347. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008111196>
10. Crapo, P.M., Gilbert, T.W. and Badylak, S.F. (2011) An Overview of Tissue and Whole Organ Decellularization Processes. *Biomaterials*, 32, 3233-3243. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.01.057>
11. Gilpin, S.E., Guyette, J.P., Gonzalez, G., Ren, X., Asara, J.M., Mathisen, D.J., et al. (2014) Perfusion Decellularization of Human and Porcine Lungs: Bringing the Matrix to Clinical Scale. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 33, 298-308. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2013.10.030>
12. Marçal, H., Ahmed, T., Badylak, S.F., Tottey, S. and Foster, L.J. (2012) A Comprehensive Protein Expression Profile of Extracellular Matrix Biomaterial Derived from Porcine Urinary Bladder. *Regenerative Medicine*, 7, 159-166. <https://doi.org/10.2217/rme.12.6>
13. Hill, R.C., Calle, E.A., Dzieciatkowska, M., Niklason, L.E. and Hansen, K.C. (2015) Quantification of Extracellular Matrix Proteins from a Rat Lung Scaffold to Provide a Molecular Readout for Tissue Engineering. *Molecular & Cellular Proteomics*, 14, 961-973. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.045260>
14. Doyonnas, R., Kershaw, D.B., Duhme, C., Merkens, H., Chelliah, S., Graf, T., et al. (2001) Anuria, Omphalocele, and Perinatal Lethality in Mice Lacking the CD34-Related Protein Podocalyxin. *The Journal of Experimental Medicine*, 194, 13-27. <https://doi.org/10.1084/jem.194.1.13>
15. Ott, H.C., Matthiesen, T.S., Goh, S.K., Black, L.D., Kren, S.M., Netoff, T.I., et al. (2008) Perfusion-Decellularized Matrix: Using Nature's Platform to Engineer a Bioartificial Heart. *Nature Medicine*, 14, 213-221. <https://doi.org/10.1038/nm1684>