

# **GRADO EN MEDICINA**

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

**ÓRGANOS EN UN CHIP**

ORGANS ON A CHIP

**Autor/a: ALEJANDRO GARCÍA VALIDO**

**Director/es: Dra MARÍA AMOR HURLÉ GONZÁLEZ**

**Dra RAQUEL GARCÍA LÓPEZ**

**Santander, junio 2024.**

# ÍNDICE

ÓRGANOS EN UN CHIP .....	1
RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. OBJETIVOS.....	6
3. METODOLOGÍA.....	6
4. DISEÑO Y DESARROLLO DE LOS ÓRGANOS EN UN CHIP .....	7
4.1. CHIP MICROFLUÍDICO .....	7
4.2. MICROSENSORES.....	8
4.3. MICROACTUADORES.....	8
4.4. MICROTEJIDOS/CÉLULAS VIVAS .....	8
5. INDUCED PLURIPOTENT CELLS (iPSCs) PARA EL DESARROLLO DEL ÓRGANO EN UN CHIP.....	9
6. CORAZÓN EN UN CHIP .....	11
6.1. BIOLOGÍA DEL CORAZÓN .....	11
6.2. ESTRUCTURA DEL CORAZÓN EN UN CHIP: COMPONENTES FUNDAMENTALES.....	13
<u>6.2.1.</u> CHIP MICROFLUÍDICO .....	14
<u>6.2.2.</u> TEJIDOS/CÉLULAS VIVAS .....	14
<u>6.2.3.</u> MICROACTUADORES.....	17
<u>6.2.4.</u> MICROSENSORES.....	18
<u>6.2.5.</u> VASCULARIZACIÓN DE ORGANOIDES .....	18
6.3. APLICACIONES BIOMÉDICAS DEL CORAZÓN EN UN CHIP .....	20

<u>6.3.1.</u> CRIBADO Y DESARROLLO DE FÁRMACOS .....	21
<u>6.3.2.</u> MODELOS DE ENFERMEDAD CARDÍACA .....	24
7.    MEDICINA DE PRECISIÓN Y PERSONALIZADA .....	26
8.    CONCLUSIONES Y FUTURO DE LOS ÓRGANOS EN UN CHIP .....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	29
AGRADECIMIENTOS.....	33

## **RESUMEN**

La industria farmacéutica está constantemente evolucionando para optimizar el proceso de desarrollo de fármacos y mejorar la eficacia de los medicamentos, al tiempo que reduce los efectos secundarios. Tradicionalmente, los ensayos preclínicos se han basado en pruebas con animales, lo que, aunque efectivo, plantea desafíos al extrapolar los resultados a humanos. Sin embargo, los avances tecnológicos recientes, especialmente el descubrimiento de células madre pluripotentes inducidas, han abierto la puerta a la posibilidad de replicar órganos humanos en el laboratorio, permitiendo contar con modelos de ensayos preclínicos más adecuados para el estudio de enfermedades. A su vez plantea la oportunidad de obtener órganos genéticamente idénticos para cada paciente a tratar. Esta revisión destaca las características esenciales para desarrollar un "órgano en un chip", así como sus posibles ventajas, aplicaciones biomédicas y nuevas perspectivas en la investigación farmacéutica, haciendo especial hincapié en el modelo de corazón en un chip.

*Palabras clave: Órgano en un chip, corazón en un chip, medicina de precisión, farmacología, ensayos preclínicos, iPSC, enfermedad cardiovascular.*

## **ABSTRACT**

The pharmaceutical industry is constantly evolving to optimize the drug development process and improve medication efficacy while reducing side effects. Historically, preclinical trials have relied on animal testing, which, although effective, presents challenges when extrapolating results to humans. However, recent technological advances, particularly the discovery of induced pluripotent stem cells, have opened the door to the possibility of replicating human organs in the laboratory, allowing for more suitable preclinical trial models for disease study. This also raises the opportunity to obtain genetically identical organs for each patient to be treated. This review highlights the essential characteristics for developing an "organ-on-a-chip," as well as its potential advantages, biomedical applications, and new perspectives in pharmaceutical research, with a special emphasis on the heart-on-a-chip model.

*Keywords: Organ-on-a-chip, heart-on-a-chip, precision medicine, pharmacology, preclinical trials, iPSC, cardiovascular disease.*

## 1. INTRODUCCIÓN

En la investigación biomédica y farmacológica se utilizan principalmente modelos animales, así como cultivos celulares para realizar los estudios preclínicos de los fármacos. El problema de estos sistemas son su falta de complejidad y su limitada capacidad predictiva de la respuesta clínica, cosa que aumenta la dificultad en el descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos. Históricamente, el uso de animales como método de ensayo farmacológico ha sido la norma, acarreando resultados inesperados (efectos secundarios) al pasar a los ensayos clínicos en humanos. A pesar de que el uso de modelos animales en el desarrollo y evaluación de fármacos se considera un elemento clave en medicina para estudiar nuevas terapias y evaluar nuevos medicamentos, la tasa de éxito de los fármacos en los ensayos clínicos en humanos ha sido notablemente baja. Concretamente, solo un 59% de los fármacos llegan a los ensayos de fase II y solo un 21% alcanzan la fase III. Este grado de fracaso puede atribuirse a las importantes diferencias evolutivas entre los modelos animales y humanos, que resultan en una mayor complejidad estructural y biológica de los tejidos. El problema de estos sistemas es su falta de complejidad y su limitada capacidad predictiva de la respuesta clínica, cosa que aumenta el alto costo de descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos. Por lo tanto, el principal desafío en el desarrollo de fármacos radica en utilizar modelos preclínicos que permitan lograr una alta fiabilidad y predictibilidad en el resultado del tratamiento farmacológico, con el fin de minimizar los efectos secundarios imprevistos.(1,2)

Los sistemas microfisiológicos que incluyen la tecnología de “Órganos en un Chip”, se definen como sistemas de cultivo in-vitro complejos, multicelulares (y actualmente multiórganos) que imitan las propiedades fisiológicas de un órgano o tejido específico (como pueden ser el corazón, pulmón, hígado...). En los últimos años se ha evolucionado en la comprensión de estos nuevos sistemas en relación con el tratamiento y prevención de enfermedades y se prevé que la tecnología de Órganos en un Chip pueda cubrir las lagunas existentes en los estudios en cultivos celulares y modelos animales.(1–3) Además, el desarrollo de Órganos en un Chip podría ayudar a cumplir el principio de las 3Rs (Reducir, Reemplazar y Refinar en la experimentación con animales). Actualmente ya se están usando este tipo de modelos para predecir la absorción, distribución, metabolismo y excreción de fármacos y detectar posibles toxicidades.(1–3)

Durante la década de 2010, hubo un aumento en el diseño de estos sistemas, lo que empezó a transformar esta idea en una realidad para el desarrollo de nuevos medicamentos. La tecnología de Órganos en un Chip abarca desde la replicación de órganos individuales hasta la conexión de múltiples tejidos para recrear un "cuerpo humano en un chip".(2) A principios de 2010 se describió un modelo alveolo-capilar del pulmón humano en el que se podía demostrar la fisiología pulmonar in-vitro. Este modelo de pulmón consistía en dos cámaras microfluídicas separadas por una membrana porosa capaz de replicar el movimiento mecánico dinámico del pulmón además de la interfase alveolo-capilar.(4) Una década después, se demostró como diferentes órganos in-vitro se podían integrar entre sí para estudiar la progresión de enfermedades y toxicidades de manera sistémica, destacando así el enorme potencial de los Órganos en un Chip en el desarrollo de nuevos fármacos.(2,5)

En 2022, los investigadores liderados por Vunjak-Novakovic publicaron un chip multi-tejido

que comprende corazón, hígado, hueso y piel humanos conectados por flujo vascular. Cada nicho de tejido mantiene su entorno único, con células estromales de apoyo, una barrera endotelial selectivamente permeable y flujo vascular que contiene células inmunitarias circulantes, citocinas y vesículas extracelulares.(5) Estos avances muestran un camino prometedor en el desarrollo de modelos para ensayar nuevos medicamentos y en la comprensión de las interacciones entre los órganos y tejidos en un contexto más realista.(2)

Hay que mencionar que los avances para poder reconstruir un órgano en el laboratorio son posibles gracias a las Células Madre Pluripotentes Inducidas, o en inglés: **Induced pluripotent stem cells (iPSCs)**. Estas células son un componente clave en la ingeniería de tejidos, lo que permite estudiar los mecanismos de enfermedades, respuestas a medicamentos y procesos de desarrollo en modelos de tejido 3D ensamblados a partir de células isogénicas humanas.(6) Las iPSC derivan de células somáticas mediante la transferencia génica en presencia de factores de reprogramación.(7) La pluripotencia y la auto-renovación son características únicas de las iPSC que las hacen ideales para el desarrollo de órganos en un chip. Su capacidad para diferenciarse indefinidamente en células de las tres capas germinales las convierte en un instrumento importante para tratar lesiones, enfermedades y también es útil para desarrollar tejidos humanos in vitro. La posibilidad de generar iPSC específicas del paciente con alta eficiencia y seguridad a través de protocolos que involucran aspectos bioquímicos y epigenéticos amplía el potencial terapéutico y de investigación de estas células.(8)

Hasta la fecha, se han desarrollado diferentes órganos en chips exitosamente, como pueden ser: riñón, pulmón, cerebro, hígado... Esta revisión se centrará principalmente en el desarrollo de las diferentes técnicas para crear un corazón en un chip. El corazón humano es uno de los órganos más complejos del cuerpo humano en términos de estructura y de función. Está compuesto por varios tipos celulares con distintos orígenes desde el punto de vista del desarrollo. La investigación y los descubrimientos en el campo del desarrollo cardíaco a lo largo de los años han permitido la identificación de una gran cantidad de factores genéticos, bioquímicos y biofísicos que se orquestan espacial y temporalmente para formar un corazón maduro. Estos estudios han proporcionado una guía molecular para que los ingenieros sean capaces de construir tejido muscular cardíaco in vitro. Particularmente la diferenciación de células de iPSC humanas a diferentes tipos celulares cardiovasculares es una de las claves para conseguir este objetivo.(3,6)

A lo largo de más de dos décadas, se han desarrollado a partir de iPSC una amplia variedad de esferoides cardíacos, organoides y modelos de "corazón en un chip" que incorporan las últimas tecnologías y materiales disponibles.(6)

Las células derivadas de iPSC han surgido como la fuente celular predominante para la ingeniería de tejido cardíaco. La versatilidad única de las iPSC, combinada con avances en biomateriales y tecnología de "órganos en un chip", ha dado como resultado una amplia variedad de modelos de tejido cardíaco in vitro, que van desde esferoides y organoides hasta parches cardíacos trasplantables y corazones impresos en 3D.(3,6)

El desarrollo de "órganos en un chip" es una herramienta clave en lo que se refiere a la evolución de la medicina de precisión y personalizada. La "medicina de precisión" es un

término que se refiere a la adaptación de tratamientos a una subpoblación de personas que difieren en su susceptibilidad para desarrollar una enfermedad específica o responder a un medicamento en particular.(3,9) El concepto de tener un chip personalizado para cada paciente en el que diferentes fármacos pueden ser probados en un sistema basado en las células propias del individuo, abre la puerta a la posibilidad de encontrar un fármaco y una dosis indicada para cada individuo.

Además, hay que tener en cuenta otros retos que hay que superar para aumentar la eficiencia de la investigación y desarrollo de fármacos. La consideración de las variaciones genéticas individuales es un fenómeno relativamente nuevo en el desarrollo de fármacos. Incluso los factores epigenéticos y ambientales pueden tener un impacto tremendo en la respuesta de un paciente al tratamiento, pero estos efectos permanecen en gran medida poco investigados y desconocidos. Por lo tanto, existe una necesidad innegable y urgente de refinar el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos para tener en cuenta las variaciones genéticas y epigenéticas, así como los factores ambientales y circunstanciales que alteran los resultados del tratamiento.(10–12)

En consecuencia, los Órganos en un Chip son particularmente adecuados para el desarrollo de fármacos específicos para pacientes, gracias a su notablemente mayor capacidad de procesamiento y al control preciso de los microambientes celulares, así como la capacidad de proporcionar estímulos mecánicos y eléctricos y recapitular las interacciones entre diferentes unidades funcionales. Otras ventajas en comparación con las plataformas de prueba de fármacos convencionales incluyen una mayor eficiencia en el tiempo de cribado, menor costo y menor consumo en líneas celulares y reactivos químicos/biológicos costosos.(10,12)

En esta revisión se discutirán los bloques elementales que conforman un órgano en un chip, su desarrollo y como ha ido avanzando esta tecnología. Se utilizará como ejemplo el corazón como órgano en un chip para explicar los beneficios de esta nueva herramienta, no solo para el desarrollo de nuevos fármacos, sino para la investigación de las bases moleculares de las enfermedades y para la medicina personalizada o de precisión.

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo de esta revisión bibliográfica es arrojar luz sobre la tecnología de órgano en un chip que sigue en desarrollo a día de hoy, explicando cuales son los componentes esenciales del órgano en un chip además de las posibles aplicaciones biomédicas que otorgan. Así mismo se mencionan diversos estudios que apoyan las utilidades que estos chips aportan a la investigación y el desarrollo de fármacos, centrandolo en el desarrollo de corazón en un chip.

## **3. METODOLOGÍA**

Para la realización de este trabajo se utilizaron las bases de datos de Medline a través de PubMed. Se procedió a revisar artículos científicos de tipo revisión bibliográfica y experimentales relacionados con los temas abordados en este trabajo a través del uso de descriptores como: Órgano en un chip, iPSC, corazón en un chip, medicina de precisión, corazón, enfermedades cardiovasculares, ensayo preclínico y farmacología.

#### **4. DISEÑO Y DESARROLLO DE LOS ÓRGANOS EN UN CHIP**

Los órganos en un chip son dispositivos a microescala diseñados para imitar las funciones de órganos vivos. Estos sistemas biomiméticos están concebidos para preservar la funcionalidad de los órganos en una estructura tridimensional. La tecnología basada en principios biológicos ha llevado al desarrollo de estos dispositivos, que cuentan con canales microfluídicos 3D fabricados con un material polimérico transparente y recubiertos con células, permitiendo así la reproducción de características esenciales de un órgano.(13) Por lo general, un órgano en un chip incluye estos cuatro elementos fundamentales (*Figura 1*):

- **Chip microfluídico.**
- **Células/microtejidos.**
- **Microactuadores**
- **Microsensores.**

##### **4.1. CHIP MICROFLUÍDICO**

El diseño del Órgano en un Chip consiste en un conjunto de canales microfluídicos que perfunden de manera recurrente medios de cultivo que contienen nutrientes y oxígeno, así como agentes biológicos y fármacos de manera controlable. La microfluídica posee propiedades únicas diferentes de las de los fluidos típicos. Específicamente, el número de Reynolds es un número adimensional que se define como la relación entre la fuerza inercial que causa flujo turbulento y la viscosidad que causa flujo laminar, es decir, nos habla del régimen con que fluye un fluido (laminar o turbulento). Un número de Reynolds inferior a 2300 nos indicaría que existe un flujo laminar, un valor entre 2300 y 4000 sería un fluido en transición y un valor por encima de 4000 indicaría flujo turbulento.(14) En los sistemas microfluídicos, dado que los flujos son frecuentemente laminares, el encuentro de dos fluidos puede crear gradientes de concentración estables que solo se mezclan en la interfaz de contacto a través de la difusión. Este gradiente puede ser empleado de manera efectiva para separar proteínas y células en los chips microfluídicos. Gracias a estas características laminares uniformes, los sistemas microfluídicos pueden ser fácilmente controlados y dirigidos para lograr una alta reproducibilidad, particularmente en la manipulación de las interacciones del flujo celular.(11,15,16)

El órgano en un chip necesita ser fabricado utilizando un material que no influya en los componentes del microentorno celular y mantenga una conexión fluida estable. El material más popular utilizado se conoce como **polidimetilsiloxano (PDMS)**. Este material es sintético, basado en carbono y silicio. La fabricación se realiza mezclando el PDMS líquido con un agente que ayuda a su solidificación. La mezcla se vierte luego en un molde dándole la forma del chip. Después de que la mezcla se endurece, el cuerpo de los chips puede ser pegado a vidrio u otro chip. El PDMS es muy popular debido a muchas de sus propiedades como por ejemplo su permeabilidad a los gases, flexibilidad y, al ser transparente, permite ver cómo se comporta el Órgano en un Chip. El material es económico y se sabe que tiene una citotoxicidad reducida, lo que facilita su uso en este contexto.(17,18)

## **4.2. MICROSENSORES**

Además, el Órgano en un Chip se combina con un componente de monitorización no invasivo basado en microdispositivos (por ejemplo, **microsensores**(19)) con un sistema de control microfluídico automatizado para realizar una manipulación sofisticada de fluidos y permitir mediciones repetidas y pruebas automáticas, reduciendo errores humanos. La integración de un sistema analítico bioquímico en los Órganos en un Chip permite la evaluación de diversas interacciones que ocurren en los cambios de metabolitos de los organoides bajo el tratamiento con fármacos en tiempo real. Además, la miniaturización del sistema analítico reduce el uso de reactivos costosos y el volumen de muestreo, así como mejorar la eficiencia analítica para evaluar organoides de manera que se puedan maximizar los efectos generales de las variables experimentales.(11)

Debido a la estructura diferente de cada órgano, se requieren diferentes biomateriales para obtener buenos resultados. Por ejemplo, el colágeno es ampliamente utilizado por sus beneficios, pero requiere algún tipo de soporte mecánico para que permanezca intacto. En algunos casos, se requiere equipo externo para obtener los mejores resultados. En primer lugar, es necesario controlar el flujo externo de los micro y nanofluidos. Para esto se utilizan generadores de presión y diferentes tipos de bombas.(20) Comúnmente, hay dos tipos de bombas utilizadas para el control del flujo. El primero son las bombas simples utilizadas para líquidos. El otro tipo son las bombas electrosmóticas, las cuales no tienen problemas de fluctuación en el flujo y son resistentes a altas presiones, pero tienen la desventaja de requerir líquidos de baja conductividad para funcionar correctamente.(17)

## **4.3. MICROACTUADORES**

Los **microactuadores** se utilizan para estimular de manera externa a las células/microtejidos. En los organismos vivos, las células están sujetas a diversos estímulos químicos, mecánicos y eléctricos, que afectan significativamente comunicación intracelular. En el corazón en un chip, la función principal del microactuador es estimular las células/microtejidos para promover su maduración. Entre estos estímulos destacan los eléctricos y los mecánicos.(19)

## **4.4. MICROTEJIDOS/CÉLULAS VIVAS**

La obtención de células vivas y microtejidos similares al órgano a reproducir es el paso más determinante a la hora de obtener un órgano en un chip. Los **microtejidos o células vivas** suelen tener una morfología tridimensional. Se ha descubierto que los microtejidos en 2D y 3D difieren en la expresión de proteínas y en la respuesta a fármacos. Para fabricar los microtejidos en 3D, se han propuesto diversos métodos, incluyendo fotolitografía, electrohilado y bioimpresión en 3D. Entre ellos, la bioimpresión en 3D es considerada la técnica más prometedora para fabricar microtejidos. Las bio-tintas cargadas de células se imprimen a través de la boquilla de una impresora 3D. Hasta ahora, las bio-tintas más utilizadas son los hidrogeles, que tienen una estructura similar a la de la matriz extracelular y propiedades porosas, permitiendo así una buena difusión de biomoléculas. Por lo tanto, son candidatos prometedores para la fabricación de microtejidos y la simulación.(19,21)

En la Figura 1 se resumen todos los componentes que se integran para formar el órgano

en un chip.(22)

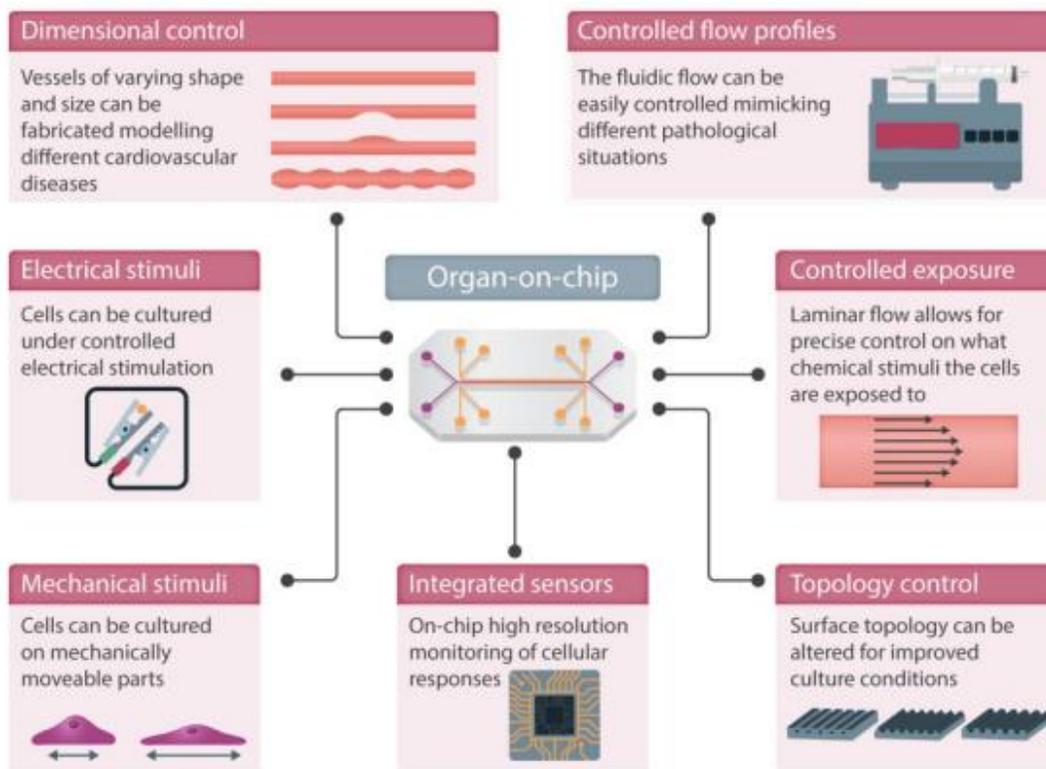


Figura 1: Los diferentes componentes del órgano en un chip. Tomado de Paloschi V et al. 2021.

## 5. INDUCED PLURIPOTENT CELLS (iPSCs) PARA EL DESARROLLO DEL ÓRGANO EN UN CHIP

Como se ha comentado en el apartado anterior, unos de los componentes clave para la creación de un Órgano en un Chip son los tejidos celulares vivos. Las **Células Madre Pluripotentes Inducidas (iPSCs;** del inglés *Induced Pluripotent Stem Cells*) se obtienen mediante técnicas in vitro conocidas como métodos de reprogramación celular. Las iPSC son obtenidas de células somáticas adultas diferenciadas mediante la expresión de genes o proteínas exógenas específicas. Además, pueden proliferar indefinidamente y diferenciarse en diferentes tipos de tejidos dependiendo de las condiciones de tratamiento.(7,23,24)

El equipo de Shinya Yamanaka (premio Nobel 2012) logró la creación de este tipo de células utilizando cuatro factores de transcripción que fueron transferidos a las células somáticas de manera retroviral. En la *Figura 2* vemos cuáles son estos factores de transcripción.(25) A pesar de que esta técnica fue exitosa, tiene dos grandes desventajas en la aplicación clínica(7,23,24):

1. La integración genómica de factores de reprogramación puede llevar a efectos no deseados como la generación de tumores.(7)

2. Esta tecnología puede conducir a un deterioro de la pluripotencia. Los factores de reprogramación son necesarios para establecer la pluripotencia, pero la activación continua de los factores de reprogramación exógenos puede disminuir la capacidad de diferenciación en tipos celulares específicos o, incluso, transformar por completo las células.(7)

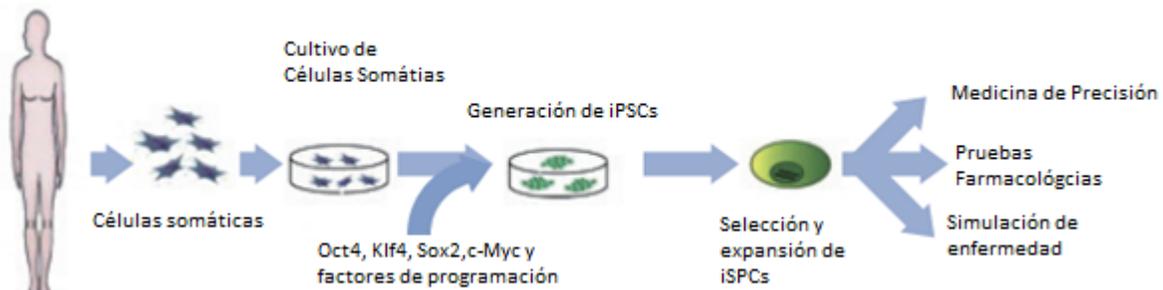


Figura 2: La generación y aplicaciones de iPSCs a partir de células somáticas. iPSC: célula madre pluripotente inducida, Oct4: factor de transcripción de unión al octámero 4, Klf4: factor 4 tipo Krüppel, Sox2: gen 2 que contiene la caja SRY, c-Myc: gen M y cito plasmático. Tomado de Chang EA et al, 2019.

Para resolver los problemas mencionados anteriormente, se han desarrollado diferentes métodos para evitar la alteración directa del ADN del huésped. En la siguiente lista (ordenada de menor a mayor seguridad) se enumeran las distintas técnicas de reprogramación celular empleadas en el desarrollo de las iPSCs, siendo el último grupo (Exogen no integrado) el que contiene las técnicas más seguras a la hora de inducir estas células(7):

- Integración del Exogen.
  - o Lentivirus.
  - o Retrovirus.
  - o PhiC31 Integrasa.
- Escisión del Exogen.
  - o Lentivirus con capacidad de escisión.
  - o Trasposón con capacidad de escisión.
- Exogen no integrado.
  - o Virus Sendai.
  - o Vector episomal.
  - o ARN mensajero sintético.
  - o ARN autorreplicante.

## **6. CORAZÓN EN UN CHIP**

### **6.1. BIOLOGÍA DEL CORAZÓN**

La pared del corazón está compuesta por tres capas especializadas (Figura 4): el endocardio (capa más interna), el miocardio (capa intermedia) y el epicardio (capa más externa). El endocardio está compuesto principalmente por células endoteliales, que recubren las paredes internas de las válvulas y cámaras del corazón (26–28).

El corazón está envuelto en el pericardio, que está formado por dos membranas, una externa y fibrosa (pericardio parietal), y otra interna y serosa (pericardio visceral). Entre estas dos capas se encuentra la cavidad pericárdica que es virtual y contiene una cantidad reducida de líquido. La capa visceral del pericardio seroso también se llama epicardio. Estudios recientes han demostrado que puede ser una fuente de células progenitoras multipotentes (26,27).

Los cardiomiocitos constituyen el mayor porcentaje del corazón por volumen y masa (aproximadamente el 75%), mientras que son similares a los fibroblastos en proporción numérica (30 al 35%). Es importante destacar que la distribución de los tipos de células, especialmente cardiomiocitos y fibroblastos, varía entre las cámaras del corazón y entre hombres y mujeres. El miocardio consta de tres componentes estructurales integrados: miocitos, matriz extracelular y microcirculación capilar que proporciona servicios al ensamblaje de la unidad contráctil. Los cardiomiocitos desarrollan tensión al acortarse, mientras que la matriz extracelular proporciona un andamio viscoelástico tolerante al estrés, compuesto por colágeno tipo I y tipo III, que acopla mecánicamente los miocitos y mantiene las relaciones espaciales entre los miofilamentos y su microcirculación capilar (6,26,27). Esta microestructura permite la mecanotransducción que promueve una contracción sinérgica y temporalmente ordenada del corazón a partir de la contracción individual de cada cardiomiocito.

La existencia de un sistema eléctrico intrínseco, que se encarga de la formación y transmisión del impulso, es un descubrimiento de finales del siglo XIX y principios del siglo XX (29). El sistema eléctrico del corazón incluye tres partes importantes o vías: el nodo sinusal (nodo SA), el nodo auriculoventricular (nodo AV) y el sistema de His-Purkinje. El nodo SA está situado en la pared de la aurícula derecha del corazón humano y tiene la tasa más rápida de despolarización espontánea de todo el sistema. Por este motivo se le conoce como el marcapasos natural del corazón, que genera el impulso cardíaco. Las señales eléctricas creadas por el nodo SA se dirigen al nodo AV. El retraso de los impulsos cardíacos es la función más importante del nodo AV. Los impulsos se retrasan nuevamente en el haz de His. El sistema de His-Purkinje permite el rápido paso de los impulsos hacia el miocardio contráctil ventricular. Las proteínas en uniones gap de alta conductancia desempeñan un papel importante en la conducción. Esto es esencial para la activación de los ventrículos con un patrón temporal adecuado y, en consecuencia, el desplazamiento de sangre en los ventrículos durante la fase de contracción isovolumétrica desde las cámaras de entrada hacia los tractos de salida en la base del corazón (26,27).

Las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la principal causa de muerte en todo el mundo, estimándose, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), que causaron 17,9 (IC: 13,4-22,9) millones de muertes a nivel global en 2019.(30) Las enfermedades cardíacas se manifiestan en varias formas, como enfermedad isquémica, arritmias y enfermedades congénitas, entre otras, que pueden progresar hacia la insuficiencia cardíaca.(19,31,32) Debido a la compleja estructura del corazón de mamíferos adultos, las enfermedades miocárdicas pueden tener su origen en diferentes estructuras o tipos celulares como las válvulas cardíacas, las arterias coronarias, capilares, las células endoteliales, las venas, los fibroblastos intersticiales, las células nodales, las células del sistema de conducción o los propios cardiomiocitos. Muchas enfermedades cardíacas están asociadas con una disminución en el número de cardiomiocitos funcionales y, aunque empieza a haber evidencia sobre la proliferación de cardiomiocitos y/o actividad de células madre cardiomiogénicas en el corazón adulto, estos fenómenos carecen aún de la capacidad suficiente para revertir el daño debido a la pérdida de grandes cantidades de cardiomiocitos.(26)

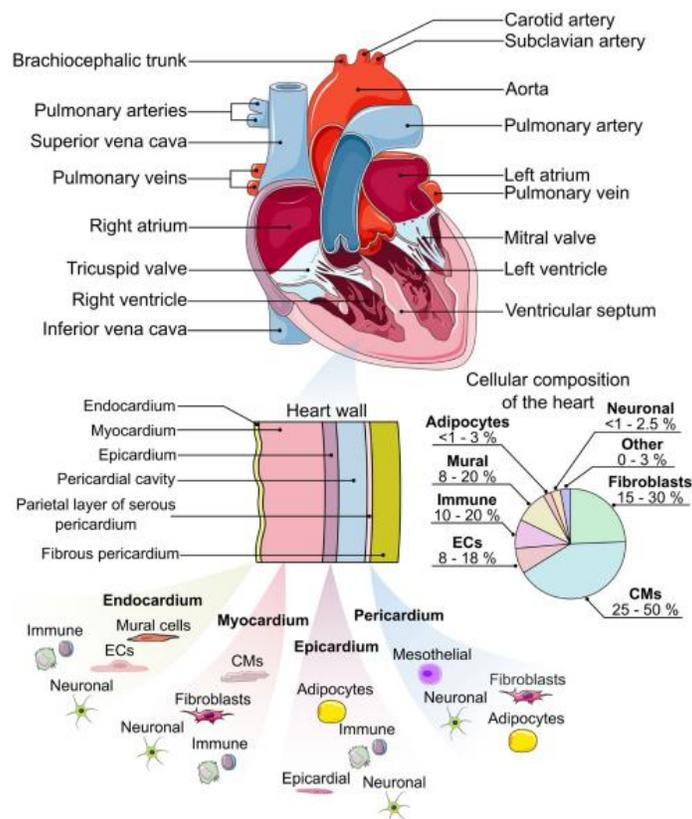


Figura 3: representación anatómica del corazón y su pared con los principales tipos celulares constituyentes de cada región cardíaca. ECs = células endoteliales, CMs = cardiomiocitos. Tomado de Butler D et al, 2024.

Para desarrollar tratamientos efectivos contra las diversas patologías cardíacas, es necesario conocer las funciones de las células en un entorno que se asemeje a las condiciones in vivo. La creación de un chip que integre toda la estructura cardíaca permite el estudio molecular de las enfermedades cardiovasculares, así como de la regeneración cardíaca y también permitiría investigar el efecto y las propiedades terapéuticas o tóxicas de fármacos tanto en corazón sano como en aquellos que tengan alguna patología. Además, también abre la puerta a la investigación centrada en la creación de tejido

cardíaco para trasplantes.(16,26)

## 6.2. ESTRUCTURA DEL CORAZÓN EN UN CHIP: COMPONENTES FUNDAMENTALES

Como se había mencionado anteriormente, los órganos en un chip, y concretamente el corazón, requiere de cuatro componentes fundamentales: tejido/células vivas, control del medio (microactuadores), control analítico (microsensores) y el chip microfluidico que proporcionará la estructura principal (Figura 4).(6,27,33) Debemos tener en cuenta que cada corazón en un chip puede ser muy distinto de otro dependiendo de la finalidad de su uso. Es decir, un chip que tenga la finalidad de investigar el infarto miocárdico, por ejemplo, tendrá una estructura específica con especial importancia en la estabilidad y la capacidad de controlar los gradientes de oxígeno, mientras que, otro chip cuya finalidad sea estudiar la contractilidad del miocardio, tendrá su énfasis en monitorizar dicha contractilidad.(27,33)

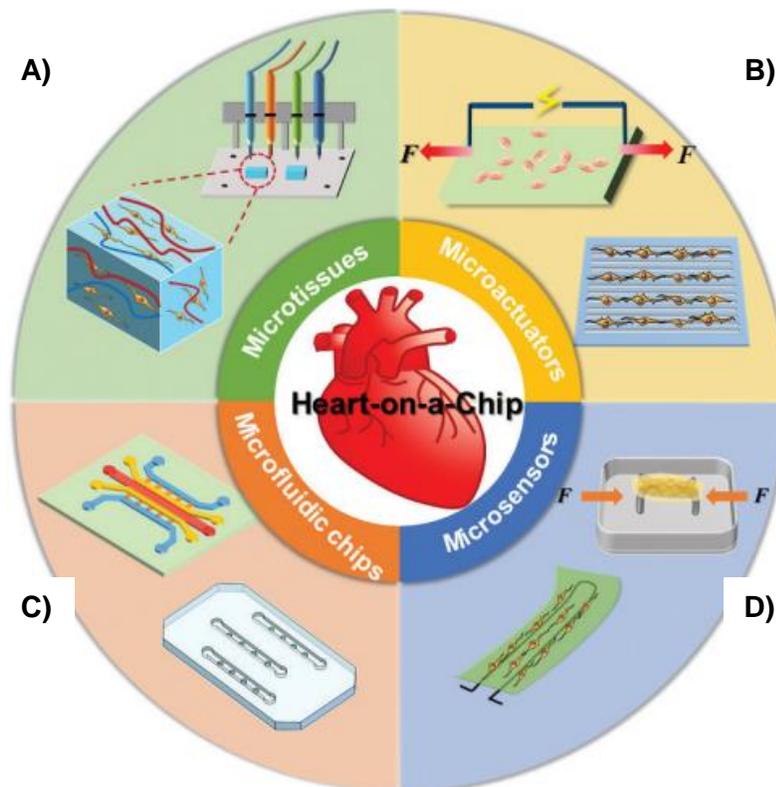


Figura 4: Estructuras del corazón en un chip. Un corazón en un chip altamente integrado puede incluir cuatro componentes: A) Microtejidos, B) Microactuadores, C) Chips microfluidicos y D) microsensores. Tomado de Yang Q. et al, 2021.

### **6.2.1. CHIP MICROFLUÍDICO**

El chip microfluídico y los materiales con los que están contruidos son los que proporcionarán los pilares sobre los que se asentarán sus componentes principales. El material que más se usa para ello es el polidimetilsiloxano (PDMS), un compuesto polimérico de silicio orgánico, cuyas principales ventajas son sus propiedades no tóxicas, que son químicamente inertes y ópticamente transparentes, así como su facilidad de manejo y su bajo coste. Pero hay que tener en cuenta que con moléculas de muy pequeño tamaño tienen una tasa de absorción bastante alta, por lo que habría que tener esto en cuenta si el chip fuese a ser utilizado para ensayos clínicos con fármacos.(19,27,34) Por este motivo, hay investigaciones en torno a otros materiales como el polimetilmetacrilato (PMMA), con propiedades similares al PDMS pero con una mayor biocompatibilidad (solucionando el problema de la absorción de moléculas pequeñas del PDMS), fuerzas mecánicas superiores y mejor transparencia.(19) De igual manera, los avances en la tecnología de bioimpresión 3D permite el uso de otros materiales (poliuretano termoplástico, policaprolactona y silicona) gracias a su maleabilidad termoplástica y a sus ventajas como pueden ser su resistencia a químicos, transparencia óptica, bajo punto de fusión y alta resistencia a la abrasión.(19,27)

### **6.2.2. TEJIDOS/CÉLULAS VIVAS**

Como piezas clave del corazón en un chip, cabe destacar la estructura biológica que se requiere para su desarrollo. Como se ha explicado anteriormente en esta revisión, uno de los principales componentes del órgano en un chip son las iPSCs, las cuales proporcionan el tejido o las células vivas del chip. Los cardiomiocitos son fundamentales, ya que además de ser las células principales y activas del corazón, proporcionan parte del andamiaje para la integridad estructural del chip.(6,26) Asimismo, esta tecnología (iPSCs) permiten el desarrollo de otras líneas celulares como células endoteliales o fibroblastos que son responsables de crear la matriz extracelular en el corazón. Una colocación estratégica de los diferentes tipos celulares permitiría una representación más precisa del corazón y, por lo tanto, realizar estudios más dirigidos en cuanto a enfermedades cardíacas o ensayos clínicos con fármacos se refiere.(27,31,32)

En la actualidad, una de las técnicas más comúnmente utilizadas es la modulación de la vía de señalización de Wnt.(35) Su activación temprana dirige la diferenciación cardiogénica mesodérmica y su posterior inhibición dirige a las células hacia una diferenciación en células progenitoras cardíacas. Esta regulación se logra mediante el uso de moléculas que ya son bien conocidas como, por ejemplo, el inhibidor de GSK3.(36) Una vez se obtienen las células progenitoras cardíacas, se las somete a una selección metabólica (privación de glucosa, por ejemplo), lo que resulta en una población diferenciada de cardiomiocitos con latido. (6)

Sin embargo, el corazón es una estructura tridimensional con varias estirpes celulares distintas que trabajan en conjunto. Por lo tanto, para crear un Corazón en un Chip, hay que reproducir todos los tipos celulares. Las otras células de mayor importancia en el tejido cardíaco, y cuyos protocolos de diferenciación se han ido desarrollando en los últimos años son: Células endoteliales, fibroblastos cardíacos y células musculares lisas vasculares.(28,37) De nuevo, las iPSC son primero diferenciadas hacia una formación de

mesodermo cardiogénico y, a partir de esta formación, son tratadas con diferentes moléculas y condiciones para obtener el tipo celular deseado (*Figura 5*). Aunque la pureza y madurez de las células musculares lisas iPSC y fibroblastos cardíacos iPSC resultantes siguen siendo subóptimas, se ha demostrado que se asemejan estrechamente a sus respectivas células primarias. La principal ventaja de poder generar diferentes tipos celulares a partir de las iPSC, es que se pueden generar escenarios más fisiológicos, ya que se están obteniendo microtejidos multicelulares con mayor madurez estructural y funcional.(6,24)

La multicelularidad permite investigar los mecanismos patogénicos y las respuestas a fármacos en función del tipo celular, lo que proporciona un conjunto de herramientas versátil con el cual se pueden examinar los mecanismos de comunicación intercelular utilizando líneas isogénicas. Las líneas de iPSC isogénicas son líneas derivadas del mismo individuo que se han modificado para diferir únicamente en un locus específico y que, por lo demás, son genéticamente idénticas.(38) Si bien los beneficios funcionales de incorporar múltiples tipos celulares se conocen desde hace tiempo, la capacidad de incorporar líneas celulares isogénicas reduce en gran medida los posibles efectos no deseados de factores confusos, incluida la especificidad de la especie y la dependencia de la línea celular.(6)

Uno de los desafíos comunes para este tipo de enfoques es que la mayoría de las células derivadas de iPSC son funcionalmente inmaduras y presentan características similares a las fetales. Existe un límite en la maduración de estas células utilizando los protocolos de diferenciación convencionales basados en moléculas pequeñas, que solo se puede superar con la exposición a las señales estructurales, mecánicas y/o eléctricas apropiadas que imiten de una manera más precisa el microentorno tisular fisiológico. El objetivo principal de muchos estudios de ingeniería de tejidos cardiovasculares es superar la limitación de que los organoides cardíacos derivados de iPSCs muestren perfiles de células fetales, lo que dificulta su utilización como modelo de enfermedades cardíacas en adultos. Para solventar este problema, se están desarrollando diferentes sistemas mediante la integración de biomateriales, dispositivos microscópicos y circuitos eléctricos que ayuden a mejorar la diferenciación hacia células adultas.(6,24,27,34,39) Por lo tanto, en los órganos en un Chip se están utilizando las iPSC para diseñar tejido muscular cardíaco en 3D para así evaluar el efecto de las fuerzas mecánicas, el metabolismo y la matriz extracelular en la maduración de los cardiomiocitos.(27,39)

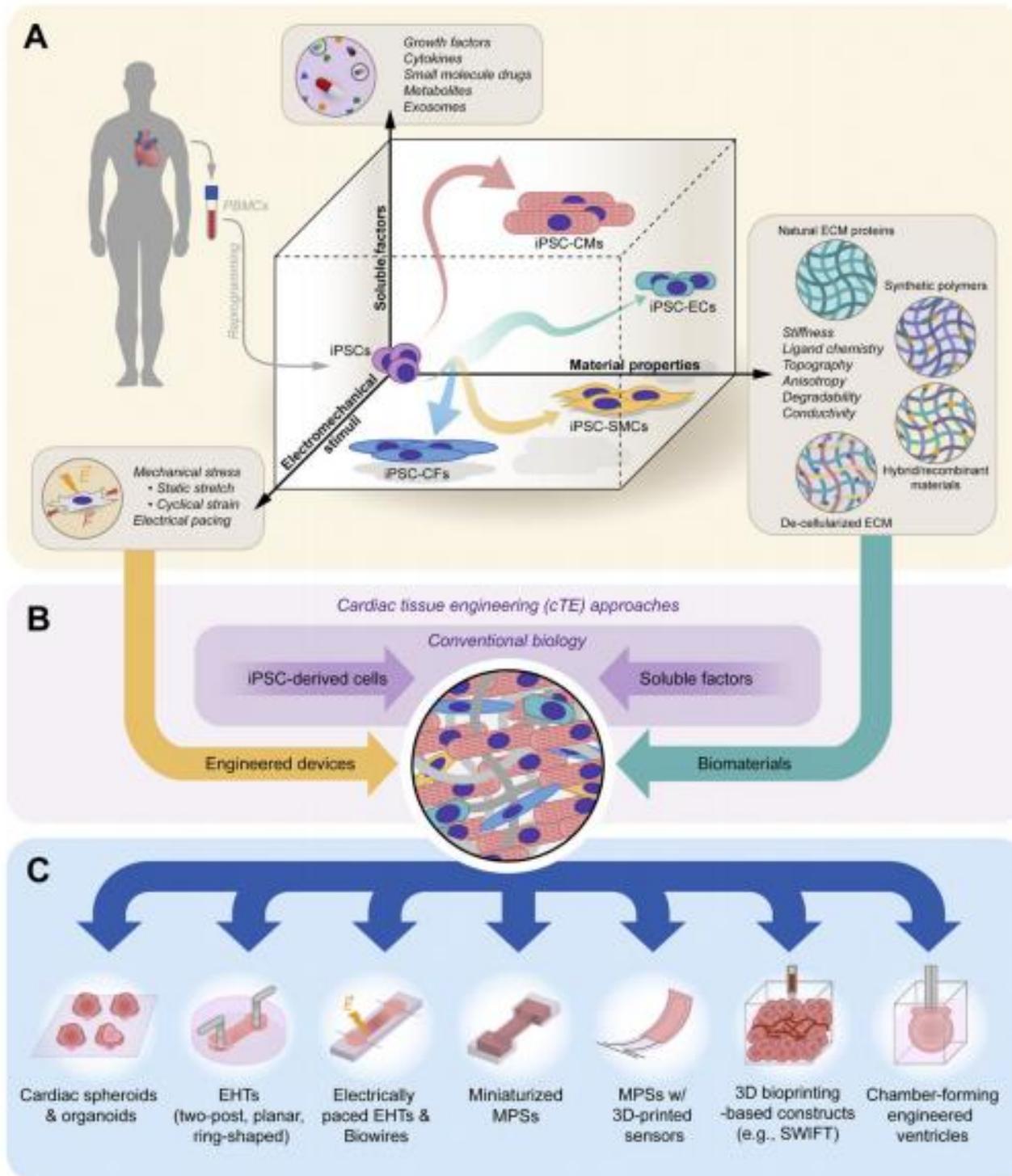


Figura 5: Ingeniería de tejidos cardíacos utilizando iPSCs. (A) La diferenciación dirigida de iPSCs de paciente en varios linajes cardiovasculares y la posterior maduración de las células diferenciadas a estados de célula adulta requieren señales coordinadas derivadas no solo de factores solubles (bioquímicos), sino también de las propiedades materiales de la matriz extracelular circundante, así como de estímulos biofísicos exógenos. (B) Mientras que los métodos de cultivo convencionales se basan únicamente en la adición de factores solubles en plástico rígido 2D, los enfoques de ingeniería de tejidos engloban diversos dispositivos, herramientas y biomateriales para proporcionar a las células las señales microambientales adecuadas para generar tejido tridimensional fisiológico. (C) Ejemplos de categorías de modelos de ingeniería de tejido cardíaco reportados en los últimos años, que van desde esferoides hasta ventrículos artificiales formados en cámaras. Tomado de Cho S et al, 2021.

### 6.2.3. MICROACTUADORES

La madurez de las células derivadas de iPSCs sigue siendo un desafío importante en el desarrollo de tejidos cardíacos en el laboratorio. Ha quedado claro que los estímulos mecánicos y eléctricos aplicados externamente a estas células, desempeñan un papel clave en la inducción de la maduración de las células y el tejido. La estimulación exógena se ha logrado mediante diversos métodos que incluye: un soporte elástico que proporciona resistencia contra cada contracción (por ejemplo, pilares flexibles, suspensiones elásticas deformables o marcos de silicona), acompañado de dispositivos de estiramiento mecánico y sistemas de entrenamiento eléctrico.(6,26) En el organismo, las células están sujetas a varios estímulos químicos, mecánicos y eléctricos, que afectan significativamente el comportamiento celular. Por lo tanto, en un corazón en un chip, es necesario contar con un microactuador, cuya función principal es la de estimular las células/microtejidos para promover su maduración.(19,33)

La **estimulación eléctrica** puede aumentar el porcentaje de células que laten espontáneamente y ayudar en la sincronización celular y la entrada/salida de calcio. En un corazón en un chip, la estimulación eléctrica generalmente se realiza a través de electrodos que están en contacto con las células.(19,33) En un corazón en un chip, la estimulación eléctrica generalmente se realiza a través de electrodos que están en contacto con las células. Éstos pueden ser de diferentes materiales como cobre, grafito, titanio, plata y platino, de los cuales el más usado es el grafito por su bajo coste, resistencia al desgaste y su alto rendimiento.(6,19) Ya cuando se comenzó a investigar la relevancia de la estimulación eléctrica en cardiomiocitos neonatales de rata in vitro, se descubrió que la estimulación eléctrica mejora la sincronización de las contracciones y la organización estructural de las células, es decir, mejora tanto la estructura como la función de los cardiomiocitos.(6,19,26,27) Además, es sabido que en los tejidos miocárdicos in vivo, los cardiomiocitos muestran contracción sincrónica a través de la comunicación eléctrica intercelular, lo que resulta en una gran fuerza de contracción. Se ha descubierto que se puede promover la comunicación eléctrica intercelular y la maduración de los tejidos miocárdicos mediante la adición de materiales conductores, como los nanotubos de carbono (NTC). Los NTC son capaces de mejorar la pulsatilidad y contractilidad de los tejidos in vitro y son una buena opción en la estimulación eléctrica del corazón en un chip.(19,33) *George et al.* cultivaron tejidos 3D compuestos por cardiomiocitos derivados de iPSC bajo estimulación eléctrica externa con diferentes frecuencias (5 V/cm a 0.5, 1 y 2 Hz), y los resultados mostraron que los tejidos cardíacos cultivados bajo estímulo a 2 Hz exhibieron un sarcomero grueso (aproximadamente 600 nm), lo que indica que la estimulación eléctrica promueve la maduración de los cardiomiocitos en cultivos 3D.(40)

La **carga mecánica** es uno de los factores más importantes que regulan el desarrollo, la maduración y el envejecimiento de las células cardíacas. Los mecanismos por los cuales la carga mecánica pasiva facilita la maduración de los cardiomiocitos aún no se comprenden completamente, pero se cree que estas fuerzas están implicadas en la alineación celular y la organización de los sarcómeros.(6,19,26) Se han desarrollado una variedad de dispositivos para ejercer estrés mecánico a las células miocárdicas con el propósito de imitar las funciones fisiológicas del corazón como por ejemplos los microactuadores electromagnéticos y neumáticos. La fuerza que se ejerce se controla bien en magnitud, frecuencia y duración en los microactuadores electromagnéticos mientras

que, los microactuadores neumáticos son capaces de imitar el microambiente mecánico de los cardiomiocitos in vivo.(19) Otra fuerza mecánica a la que las células son sometidas es el estrés por cizallamiento provocado por el movimiento de fluidos. Los fluidos utilizados para transportar nutrientes, desechos, citocinas u otros productos químicos dentro de los sistemas microfluídicos inducen estrés de cizallamiento en las células cultivadas en su interior. La magnitud del estrés mecánico en las células depende de las tasas de flujo aplicadas y la geometría del microcanal. Se sabe que este estrés es importante en el desarrollo vascular dentro del tejido.(26,33) *Bliley et al.* utilizaron haces de tejido cardíaco 3D en tiras elásticas de PDMS con dos tipos de carga mecánica (denominados  $1 \times$  y  $8 \times$ ), de las cuales unas ejercían una fuerza baja ( $1 \times$ ) y otras, alta ( $8 \times$ ) sobre los haces cardíacos. Los resultados indicaron que las tiras con una carga mecánica más alta ( $8 \times$ ) mejoró la función del tejido cardíaco desarrollando una alineación celular mejorada, mejor contractilidad cardíaca y mayor velocidad de conducción eléctrica.(41)

#### **6.2.4. MICROSENSORES**

Una de las principales ventajas de los sistemas de órganos en un chip es la capacidad de integrar sensores dentro de este para obtener un control analítico en tiempo real. En general, los investigadores están interesados en adquirir datos sobre la electrofisiología, la fuerza de contracción, la dinámica de los biomarcadores secretados o las propiedades mecánicas de las células/tejidos. Algunos ejemplos de estas herramientas analíticas incluyen microelectrodos, biosensores electroquímicos, biosensores que utilizan transistores de efecto de campo (FET), palancas elásticas, microscopía óptica, sensores ópticos (por ejemplo, resonancia de plasmones de superficie (SPR)), sensores magnéticos y biosensores piezoeléctricos, que se eligen en función de las propiedades deseadas a medir. Algunos sensores tienen el beneficio adicional de actuar tanto como componente analítico como de microactuadores. Por ejemplo, un microelectrodo podría usarse para estimular eléctricamente el tejido, acelerando así la maduración, y también permitir la realización de mediciones electrofisiológicas.(19,26,27,33)

#### **6.2.5. VASCULARIZACIÓN DE ORGANOIDES**

Los vasos sanguíneos son fundamentales para la vida animal y desempeñan roles críticos en muchas enfermedades, como el ictus, el infarto de miocardio y la diabetes. La vascularización está formada por células endoteliales que recubren los vasos que a su vez están cubiertas con células murales, específicamente pericitos en vasos más pequeños y células musculares lisas vasculares en vasos de mayor diámetro. Tanto las células endoteliales como las células murales son esenciales para la función adecuada de los vasos sanguíneos y pueden derivarse de células madre pluripotentes humanas.(42)

A pesar del éxito de los organoides en recrear las propiedades estructurales y funcionales de los órganos, recrear la vascularización de los órganos tridimensionales sigue siendo un desafío. La ausencia de oxígeno y factores de crecimiento, junto con la acumulación de desechos metabólicos, debilita la comunicación entre las células y el microentorno, lo que provoca un crecimiento inadecuado de las redes vasculares.(43) Para empezar, hay que comprender que el papel de las interacciones paracrinas de las células vasculares en la maduración y la patología cardíaca es importante. La adición de células vasculares en los organoides cardíacos humanos mejora la función y la expresión de marcadores de

maduración mediante mecanismos paracrinos.(44,45)

Se han empleado técnicas tanto in vitro como in vivo para abordar la vascularización de los organoides. Entre los métodos in vitro se encuentran los métodos de “plantilla” o template en inglés (se le proporciona al organoide una “plantilla” donde se formarán los vasos) o de autoorganización. La bioimpresión, moldeado de hidrogel mediante agujas, moldeado sacrificial y ensamblaje de láminas de hidrogel con patrones son los ejemplos del método de “template”. Por otra parte, el co-cultivo de células endoteliales y células de soporte en presencia de factores de crecimiento angiogénico para promover el autoensamblaje sería el método de autoorganización. Por último, el trasplante de organoides in vivo es otro método para lograr la vascularización.(43,46)

*Bertassoni et al.* lograron la endotelización de una estructura de hidrogel dentro de canales fabricados, una monocapa endotelial dentro del lumen de los microcanales que ellos mismos hicieron en dicho hidrogel. En este caso se le proporciona una especie de molde al organoide para que las células endoteliales tengan donde fijarse para su posterior maduración y desarrollo en vasos sanguíneos.(43,47)

*Werschler et al.* mostraron que las redes vasculares in vitro formadas por el método de autoorganización pueden asemejarse bastante al proceso de angiogénesis nativo. Consiguiendo formar tejido vascular a partir de iPSC humanas mediante la exposición de estas células a factores de crecimiento vascular como VEGFA, FGF-2 y forskolin. Las redes vasculares generadas pueden ser recolectadas y colocadas en cultivo en suspensión para su posterior maduración, análisis o trasplante in vivo.(43,46)

Por último, *Lee et al.* probaron la capacidad de angiogénesis de sus organoides cardíacos primero in vitro durante 7 días y dejaron que se desarrollase una red vascular en ellos. Posteriormente, estos organoides cuya capacidad de angiogénesis ya había sido comprobada, eran inyectados en la zona dorsal de unos ratones. A los 10 días se comprobaba la perfusión de estos organoides mediante la inyección de “evans blue” y se vio que éste llegaba hasta la periferia del tejido, comprobando así el desarrollo de la vascularización del organoide in vivo.(48) Hasta la fecha, trasplantar organoides in vivo es la forma más fiable de obtener vascularización del tejido y función vascular.(43)

En los últimos años, se han desarrollado estructuras cardíacas 3D vascularizadas mediante la impresión 3D. Uno de los diversos métodos consiste en producir un entramado 3D con estructuras similares a vasos sanguíneos mediante impresión 3D y luego cultivar cardiomiocitos en el entramado. Específicamente, los investigadores han desarrollado bio-tintas cargadas de células endoteliales para la bioimpresión 3D y han conseguido la impresión de un entramado 3D de microfibras con una orientación altamente definida y un diámetro controlable de 300 a 150  $\mu\text{m}$ . Debido a la baja viscosidad de la bio-tinta, las células endoteliales pueden migrar gradualmente hacia las periferias de las microfibras formando vasos sanguíneos confluentes.(21,33,49)

En conclusión, la importancia de que haya vascularización en los organoides para mejorar la maduración de las células cardíacas es una evidencia ya que *Voges et al.* comprobaron que la presencia de células vasculares en los organoides cardiovasculares humanos mejora la fuerza contráctil del organoide y provocan la elevación de algunos marcadores

de maduración. También observaron que el factor PDGF-BB y la matriz extracelular derivada del sistema vascular mejoraban la función cardíaca.(44) Además, hay una serie de problemas que hay que solventar como el de que el pequeño tamaño del chip restringe la formación de redes vasculares grandes y complejas. Estos desafíos deben abordarse para avanzar en el desarrollo de los órganos en un chip.(43)

### 6.3. APLICACIONES BIOMÉDICAS DEL CORAZÓN EN UN CHIP

El corazón en un chip ha proporcionado diversas aplicaciones útiles en medicina e investigación en los cuales se incluyen estudios de fisiología, modelado de enfermedades y ensayos clínicos de fármacos. En comparación con las técnicas tradicionales, el corazón en un chip puede imitar mejor el microentorno celular y promover la maduración de los microtejidos. Además, el corazón en un chip permite la monitorización en tiempo real del estado de las células/microtejidos.(19) Las aplicaciones más comunes de los órganos en un chip incluyen: cribado y desarrollo de medicamentos, evaluación de la cardiotoxicidad de contaminantes ambientales y factores de estrés, modelado de enfermedades y terapia regenerativa (Figura 6).(6,27)

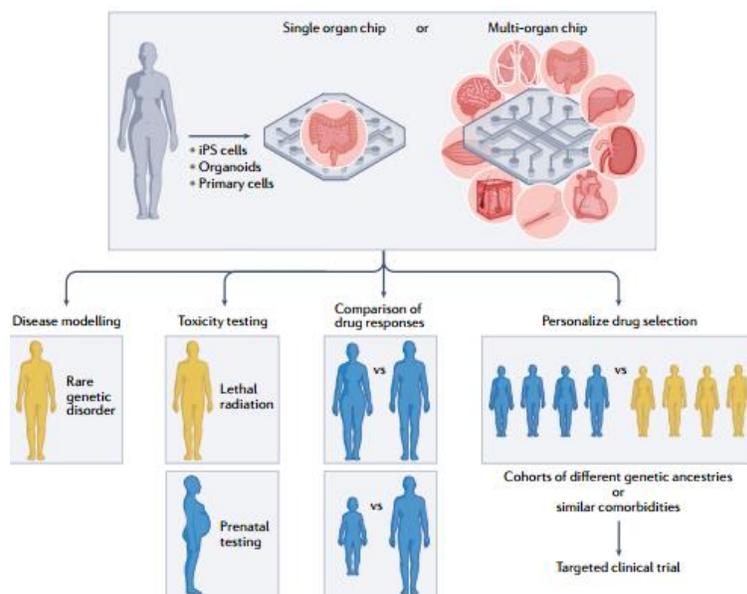


Figura 1: Aplicaciones del órgano en un chip. Partiendo de la capacidad de crear chips de un solo órgano o de varios, las principales aplicaciones son el modelado de enfermedad, ensayos clínicos relacionados con la toxicidad, comparación de respuesta a fármacos (diferencias hombre/mujer o niño/adulto) y escoger tratamientos personalizados a cada paciente. Tomado de Ingber D. 2022.

### **6.3.1. CRIBADO Y DESARROLLO DE FÁRMACOS**

Las altas inversiones económicas y el largo período de tiempo (10+ años) actualmente requeridos para llevar un medicamento al mercado han impulsado la búsqueda de alternativas a los métodos clásicos de investigación preclínica. Además, muchos medicamentos no logran pasar los ensayos clínicos a pesar del gran consumo de recursos, con solo una tasa de éxito del  $\approx 10\%$ . Para reducir el tiempo de llegada al mercado y mejorar la tasa de éxito, los sistemas de corazón en un chip podrían proporcionar un eslabón valioso entre los estudios preclínicos en animales y los ensayos clínicos o incluso servir como un reemplazo independiente de las pruebas en animales por completo.(27,50,51)

Realizar ensayos clínicos de fármacos en corazones en miniatura derivados de iPSC humanas tiene varias ventajas sobre las pruebas in vitro estándar en 2D, dado que proporcionan un modelo más fisiológico.(6,51) No solo permite la investigación de fármacos cuya diana está en el corazón, sino también investigar fármacos que actúan en otros órganos pero que pueden causar cardiotoxicidad.(19)

Por ejemplo, *Abulaiti M. et al.* emplearon isoproterenol, un agonista de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, y se descubrió que la frecuencia de latido de los microtejidos cardíacos 3D montados en el chip microfluídico aumentó de manera dosis dependiente. Esto sirvió para concluir que el modelo de corazón en un chip podría representar con precisión las respuestas farmacológicas a un agente inotrópico.(52) Otros autores que también concluyeron esto último son *Faulkner-Jones A. et al.* En su evaluación, demostraron que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tejidos 2D clásicos y los tejidos 3D logrados mediante bioimpresión. En sus ensayos utilizaron un bloqueador IKr (canales rápidos de potasio), un bloqueador LTCC (canal de calcio tipo L) y flecainida (bloqueador de canales de sodio). En todos los casos se obtuvo los resultados esperados y se concluyó que la bioimpresión 3D de las iPSCs no afecta a la sensibilidad de las células a los diferentes fármacos y, por lo tanto, hace estos tejidos aptos para realizar ensayos en ellos representando fielmente a los tejidos humanos.(53)

*McKeithan et al.*, utilizaron cardiomiocitos derivados de iPSCs de pacientes con Síndrome de QT largo tipo 3 (LQTS3), que se debe a defectos en el canal de sodio cardíaco, para evaluar la eficacia de un fármaco utilizado para tratar a pacientes con LQTS3. El fármaco, mexiletina, bloquea el efecto patológico del canal mutado, pero también tiene propiedades no deseadas. El enfoque de utilizar cardiomiocitos derivados de iPSCs de pacientes para guiar pruebas logró aumentar la potencia y selectividad de la mexiletina mientras se reducía su actividad proarrítmica tóxica. Los resultados ilustraron el uso de estas células para facilitar la rápida optimización medicinal de un fármaco y así mejorar su potencial terapéutico a la vez que reducir su efecto adverso. (51,54)

*Sewanan L. et al.* realizaron pruebas en tejido cardíaco con Mavacamten, un fármaco que actúa inhibiendo la  $\beta$ -miosina cardíaca y el cual se ha visto que tiene la capacidad de reducir la obstrucción del tracto de salida del ventrículo izquierdo además de mejorar los síntomas en pacientes con miocardiopatía hipertrófica.(55) En este ensayo se probó el efecto de Mavacamten en tejidos cardíacos obtenidos a partir de iPSCs y se comparó la fuerza de contracción de los tejidos bajo el efecto del fármaco con la de tejidos sin exposición a éste. El tratamiento con Mavacamten mostró mejorar la rigidez del tejido en fase diastólica y el

tiempo de relajación, además de reducir la carga de trabajo y la potencia del miocardio, lo que ayudaría a disminuir el costo energético de la contracción causado por la miocardiopatía hipertrófica.(56)

La dofetilida es un bloqueador de los canales de potasio y se demostró que prolonga el tiempo de repolarización medido a partir del electrocardiograma de un modelo animal in vivo.(57) *Yang et al.* emplearon un órgano en un chip al que llamaron *nanocrown electrode array (NcEA)* que se trata de un conjunto de electrodos a escala nanométrica organizados en una disposición similar a una corona. En este chip, investigaron el efecto de la dofetilida sobre el tejido cardiaco midiendo los potenciales de acción a nivel intracelular. Concluyeron que la dofetilida aumenta drásticamente la duración de los potenciales de acción y disminuye la longitud del ciclo en el rango de concentración de 0.3 a 3 nM.(58)

Los modelos microfisiológicos humanos in vitro ofrecen una alternativa prometedora, proporcionando potencial para la automatización, una mayor similitud a la fisiología humana y un mayor control sobre las condiciones experimentales. En la tabla 1(31) se comparan las diferentes cualidades de los diferentes modelos cardíacos. Estos modelos tienen la capacidad de aproximar los estudios preclínicos y a los ensayos clínicos, ofreciendo una representación más precisa de la biología humana y de los procesos de enfermedad.(10,27)

*Tabla 1: Ventajas y desventajas de los diferentes modelos cardíacos. Tomado de Mourad O et al. 2023*

	Monocapa 2D (Cardiomiocitos derivados iPSCs)	Esferoide/Organoide	Corazón en un chip	Animal
<b>Rendimiento</b>	Alto	Medio/Alto	Medio/Bajo	Bajo
<b>Similitud genética</b>	Alta	Alta	Alta	Variable
	Humano	Humano	Humano	Mamífero no humano
<b>Personalización</b>	Baja	Baja/Media	Alta	Media
<b>¿Lecturas de contractilidad convenientes?</b>	Ninguna	Baja	Alta	Alta
<b>Arquitectura cardíaca</b>	No hay similitud	Baja (3D, pero no representativa)	Medio/baja	Alta
<b>Facilidad para sondear los efectos específicos en las células.</b>	Alta	Alta	Alta	Baja/Media
<b>Capacidad para determinar efectos sistémicos</b>	Ninguna	Ninguna	Baja	Alta

Como se aprecia en la *Tabla 1* una desventaja de los corazones en un chip en comparación con los modelos 2D, es su menor rendimiento. Esto es debido a la complejidad y el proceso que conlleva la fabricación de estos chips. Los corazones en un chip pueden considerarse de un "rendimiento medio" para modelar enfermedades y realizar pruebas de fármacos. Sin embargo, a medida que continúan los avances en la automatización del cultivo de

tejidos y la bioimpresión en 3D, el rendimiento podrá aumentar. Estos avances en la tecnología que permite el desarrollo de los chips conllevan una mejora en la capacidad para realizar ensayos preclínicos en menor tiempo además de un aumento en la reproducibilidad de los ensayos ya que estos sistemas microfluidicos pueden ser replicados por diferentes investigadores para realizar las mismas pruebas y poder comparar los resultados de manera más fiable.(31)

La cardiotoxicidad es una causa común de cancelación de ensayos clínicos y retirada de fármacos del mercado posterior a su comercialización. Por lo tanto, el desarrollo de plataformas capaces de predecir fármacos cardiotoxicos durante las pruebas preclínicas es de gran importancia. Un método para evaluar la cardiotoxicidad in vitro es medir las reducciones en la contractilidad de los cardiomiocitos cuando están expuestos al fármaco de interés. Empleando los métodos que se mencionaron con anterioridad, se puede evaluar la contracción de los cardiomiocitos en el corazón en un chip.(59) Una prueba de la importancia de detectar cardiotoxicidad ante tratamientos la realizaron *Charrez et al.* Demostraron que la hidroxiclороquina y la azitromicina, dos medicamentos que se pensaba que tenían el potencial de actuar como terapéuticos para la infección por el virus COVID-19, ambos tienen un potencial proarrítmico cuando se usan tanto por separado como juntos. Los resultados de este tipo de estudios muestran la utilidad potencial de los ensayos realizados en corazones en un chip para la evaluación rápida de la cardiotoxicidad de los fármacos, lo cual es de particular importancia no solo para reducir la carga económica del proceso de descubrimiento y aprobación de medicamentos, sino también para mejorar el cribado de toxicidad de los fármacos que se están considerando para la autorización de uso en casos de emergencia.(59,60)

La conexión en serie de diferentes órganos-en-un-chip permite el análisis preliminar de las relaciones entre órganos, útil para estudios de toxicidad de medicamentos. Las plataformas personalizadas compuestas por todos los órganos modelados con iPSCs abrirán nuevas vías para predecir la respuesta de un paciente a un tratamiento farmacológico específico y capturar posibles efectos secundarios inducidos por medicamentos.(3) Es difícil predecir con precisión las interacciones entre órganos y tejidos utilizando enfoques convencionales de cultivo celular in vitro, por lo que se deben realizar pruebas en animales para predecir la farmacocinética. En el campo de la investigación de órganos-en-un-chip, se han propuesto dispositivos microfluídicos que contienen las funciones de múltiples órganos y tejidos, llamados "cuerpo-en-un-chip" o "humano-en-un-chip". Estos dispositivos podrían usarse para observar procesos farmacocinéticos continuos o vinculados, como la ADME (absorción, distribución, excreción, metabolismo) de diversas rutas de administración de medicamentos, y los datos obtenidos se pueden aplicar para construir modelos matemáticos para predecir la eficacia de los medicamentos.(16,61)

Aunque estos dispositivos de cuerpo-en-un-chip pueden imitar múltiples interacciones entre órganos in vitro, no son capaces de reproducir todas las respuestas biológicas que ocurren en un órgano in vivo. La importancia del cuerpo-en-un-chip no radica simplemente en crear cuerpos humanos miniaturizados sofisticados, sino en descubrir respuestas desconocidas que solo pueden observarse en interacciones en tiempo real entre órganos. Los datos obtenidos utilizando estos dispositivos deberían contribuir a mejorar la precisión de los modelos matemáticos. En otras palabras, la tecnología de cuerpo-en-un-chip debe utilizarse con modelos farmacocinéticos para predecir mecanismos o fenómenos

desconocidos. Actualmente, estos dispositivos no pueden usarse directamente para el descubrimiento de medicamentos como alternativa a las pruebas en animales. Todavía existen problemas por superar tanto en las tecnologías de ingeniería como en las biológicas de estos dispositivos. En muchos estudios propuestos que involucran cuerpos-en-un-chip, la utilidad de estos dispositivos se indicó mediante la evaluación de funciones fácilmente observadas y medidas. Sin embargo, un modelo in vitro práctico debería ser un sistema que pueda observar y registrar una variedad de respuestas fisiológicas a estímulos biológicos específicos.(16,61)

### 6.3.2. MODELOS DE ENFERMEDAD CARDÍACA

Los tejidos cardíacos tridimensionales diseñados están reemplazando cada vez más a las monocapas en 2D para el modelado de enfermedades complejas. Los tejidos en 3D muestran tener gran potencial ya que pueden revelar o acentuar fenotipos de enfermedades que de otra manera no se observarían en cultivos estándar en 2D. Sin embargo, tales tejidos cardíacos enfrentan grandes desafíos en cuanto a la variabilidad genética de las líneas celulares, especialmente cuando las consecuencias funcionales de las variantes genéticas son sutiles y difíciles de observar incluso a nivel de tejido. Esto se debe abordar mediante el uso de líneas isogénicas para asegurar que la única variable es la enfermedad a estudio y no se vea interferida por otras variantes genéticas. La modelización de enfermedades es un paso importante en el análisis de los mecanismos de enfermedades y el desarrollo de fármacos para su tratamiento.(6,19)

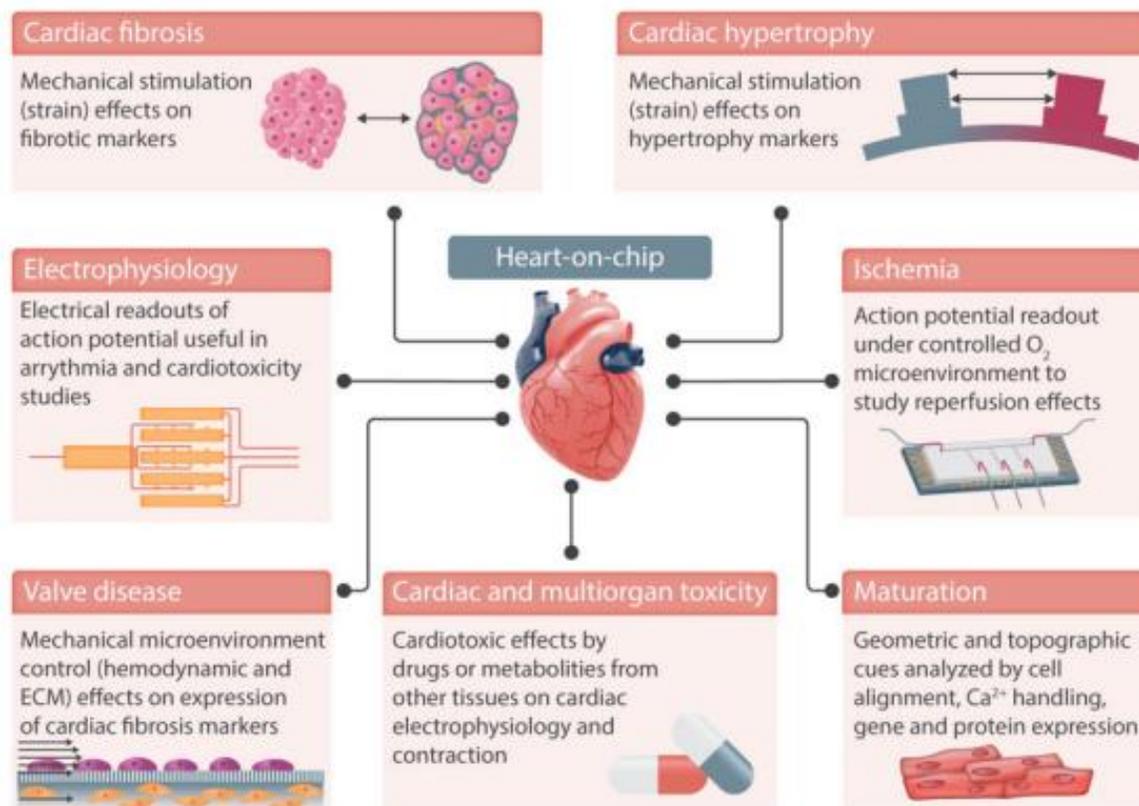


Figura 2: Diferentes modelos de enfermedad cardíaca que se pueden desarrollar en el corazón en un chip. Tomado de Paloschi et al. 2021.

La capacidad de controlar el microambiente celular y la distribución bioquímica en espacio y tiempo hace que las plataformas como el corazón en un chip sean adecuadas para modelar enfermedades in vitro y estudiar la maduración cardíaca. Las condiciones patológicas pueden modularse de manera precisa mientras que las herramientas analíticas que forman parte del chip permiten mediciones en tiempo real de la funcionalidad del tejido, lo cual es difícil de lograr con mediciones utilizadas en cultivos en 2D. Además, la obtención de cardiomiocitos derivados de iPSC ha proporcionado una oportunidad para modelar enfermedades con células que contienen el perfil genético único de un individuo, lo que proporciona una comprensión más personalizada de la progresión de la enfermedad. Con ese fin, los sistemas de corazón en un chip se han aprovechado para estudiar la maduración cardíaca y modelar una variedad de miocardiopatías, infarto de miocardio, lesión por isquemia/reperfusión (IRI) y fibrosis, entre otras como se pueden ver en la *Figura 7*. (19,22,27,59)

La capacidad para editar genéticamente las iPSC humanas y la capacidad para generar cardiomiocitos derivados de iPSC de pacientes, los convierten en una tecnología poderosa para investigar miocardiopatías hereditarias. Quizás la mayor ventaja de utilizar estas células es que asegura que las mutaciones estudiadas sean específicas de los humanos, una ventaja importante sobre los modelos animales tradicionales.(59) Las miocardiopatías pueden manifestarse a partir de una variedad de mutaciones genéticas que causan un metabolismo energético disfuncional, irregularidades estructurales o una pobre homeostasis iónica. Los avances recientes en la edición génica, junto con la capacidad de obtener células cardíacas de iPSC derivadas de pacientes, han permitido a los investigadores estudiar las miocardiopatías genéticas y hereditarias en modelos relevantes para humanos. Si bien los modelos in vitro y los corazones en un chip no pueden replicar completamente todas las complejidades del corazón humano, han llevado a mejoras en el modelado de enfermedades y en la evaluación de tratamientos potenciales. Además, la rareza de muchos trastornos genéticos hace prácticamente imposible establecer una cohorte lo suficientemente grande para un ensayo clínico. Este desafío podría superarse mediante el uso de células cardíacas derivadas de células madre y nuevos métodos de edición génica.(22,27)

La miocardiopatía hereditaria se refiere a una amplia gama de enfermedades del miocardio, siendo la cardiomiopatía hipertrófica y la dilatada los ejemplos más comunes.(31)

La **miocardiopatía hipertrófica** es una enfermedad cardíaca genética común (aproximadamente 1 de cada 500) que puede llevar a la muerte súbita arrítmica, insuficiencia cardíaca y fibrilación auricular. La enfermedad se caracteriza, a menudo, aunque no exclusivamente, por una remodelación del ventrículo izquierdo, con importantes cambios en el grosor de la pared. La mayoría de las mutaciones genéticas (70%) responsables de la miocardiopatía hipertrófica ocurren en dos genes sarcoméricos, MYH7 y la proteína C de unión a la miosina (MYBPC3).(27)

*Cohn et al.* estaban interesados en modelar la cardiomiopatía hipertrófica causada por mutaciones en la cadena pesada de  $\beta$ -miosina y en la miosina de unión C3. Los modelos de tejido cardíaco que diseñaron para cada una de las mutaciones de interés mostraron una hipercapacidad contráctil y una relajación prolongada. Se determinó que el aumento de la transcripción de p53, el estrés oxidativo y el estrés metabólico inducían citotoxicidad,

siendo causas significativas de los fenotipos de la enfermedad, y se demostró que la ablación genética de p53 mejoraba los fenotipos de la enfermedad observados.(27,31,59,62) El comportamiento hipercontráctil observado fue reversible en cierta medida mediante el tratamiento con verapamilo, un bloqueador de canales de calcio, o blebbistatina, un inhibidor directo de la miosina, aunque solo la blebbistatina redujo tanto la fuerza de contracción como la tensión en reposo.(27,62)

Por otro lado, la **miocardiopatía dilatada** se caracteriza por la dilatación del ventrículo izquierdo o de ambos ventrículos y por disfunción sistólica que no puede atribuirse a sobrecarga de volumen o presión o a enfermedad de las arterias coronarias. Las alteraciones de genes que codifican proteínas del citoesqueleto y sarcoméricas son una causa común de la cardiomiopatía dilatada heredada. Algunos ejemplos de genes causantes de esta enfermedad son: TTN (codifica titina), DMD (codifica distrofina), LMNA (codifica lamin A/C), MYH7 (codifica la cadena pesada de  $\beta$ -miosina), RBM20 (codifica proteína 20 de unión al ARN) y TNNI1 (codifica troponina I cardíaca).(27,31,59)

El efecto de una mutación missense S635A en el gen RBM20 fue examinado por *Streckfuss-Bomeke et al.* utilizando cardiomiocitos derivados de iPSC de pacientes con miocardiopatía dilatada.(63) Aunque no se observaron diferencias en el área de superficie celular, el tejido modificado mostró una distribución notablemente irregular de la proteína sarcomérica  $\alpha$ -actinina junto con un ciclo de  $Ca^{2+}$  disfuncional. Como resultado, el tejido modificado demostró una menor fuerza de contracción y una disminución del estrés pasivo en comparación con las muestras de control. La mutación RBM20 también llevó a una mayor presencia de la isoforma de proteína TTN N2BA, la cual es más grande y elástica que la isoforma N2B, más pequeña y rígida y que predomina en un corazón sano.(27,59,63)

La capacidad de construir chips con células derivadas de pacientes también abre nuevas aproximaciones para el desarrollo terapéutico, especialmente para pacientes con trastornos genéticos raros. Esta característica es especialmente relevante dada la dificultad para reunir suficientes pacientes con un trastorno raro para estudios clínicos.(10)

## **7. MEDICINA DE PRECISIÓN Y PERSONALIZADA**

"Medicina de precisión" es un término que se refiere a adaptar el tratamiento a una subpoblación de personas que difieren en su susceptibilidad para desarrollar una enfermedad específica o en su respuesta a un medicamento particular. Aunque las definiciones de la medicina de precisión varían, se entiende ampliamente como el uso de herramientas de diagnóstico y tratamientos dirigidos a las necesidades del paciente como individuo en función de características genéticas, de biomarcadores o factores psicosociales. (9,64,65)

La medicina tradicional solía utilizar un enfoque en el que un medicamento en particular se usaba para tratar a todos los pacientes que padecían una enfermedad específica. Sin embargo, este enfoque da lugar a tres situaciones clínicas diferentes: (i) solo un cierto porcentaje de estos pacientes respondería al medicamento, (ii) un porcentaje significativo no respondería y (iii) otro grupo importante desarrollaría efectos adversos. Las razones de estas diferencias interindividuales podrían ser variaciones genéticas, edad, género, adicciones, raza, etnia, medicamentos concomitantes, comorbilidades, factores

ambientales, y así sucesivamente. Esto llevó no solo al desperdicio de medicamentos, sino también a costes aumentados y una satisfacción deficiente tanto para el paciente como para el médico.(9,64,65)

La medicina personalizada es una práctica médica que utiliza datos obtenidos de las células de un paciente individual para guiar las decisiones relacionadas con la prevención, el diagnóstico o el tratamiento de enfermedades.(11,65) Los órganos en un chip podrían utilizarse para desarrollar o seleccionar terapias personalizadas para pacientes individuales, subpoblaciones genéticas específicas o incluso subgrupos con comorbilidades particulares, lo que podría revolucionar el diseño de los ensayos clínicos.(10,65) Incluso países como Singapur plantean la posibilidad de integrar la medicina de precisión a la medicina tradicional con el objetivo de ofrecer diagnósticos más precisos, dirigir intervenciones adecuadas y reducir posibles incompatibilidades de medicamentos.(66)

A lo largo de esta revisión se ha ido comprobando y describiendo las diferentes maneras en las que el órgano en un chip contribuye a la realización de una medicina personalizada y de precisión ya que los ensayos clínicos de fármacos se están realizando sobre tejidos que son genéticamente idénticos a los del propio paciente. No solo esto, sino que también permite el estudio específico de enfermedades de un individuo en particular, permitiendo monitorizar la evolución de la enfermedad a la vez que descubrir el tratamiento o terapia más eficaz en cada caso.(27) Por lo tanto, el uso de órganos en un chip basados en iPSC es una herramienta poderosa para el desarrollo de la medicina personalizada, particularmente en el desarrollo de fármacos.(11)

## **8. CONCLUSIONES Y FUTURO DE LOS ÓRGANOS EN UN CHIP**

El proceso de aprobación de medicamentos es un procedimiento largo y costoso que a menudo se practica a través de modelos animales in vivo o cultivos en placas 2D in vitro. Sin embargo, esos modelos no logran reproducir completamente y predecir las complejidades de los tejidos y enfermedades humanas, lo que resulta en posibles errores para los pacientes. La tecnología de órgano en un chip ofrece un método novedoso para reemplazar o complementar los métodos actuales de estudio de fármacos y acelerar el procedimiento de evaluación de estos al reproducir de una manera más precisa los tejidos nativos con sus interacciones célula-célula.

Los sistemas de órgano en un chip han avanzado tremendamente en la última década, coincidiendo con mejoras en la ingeniería de tejidos, la modificación genética y especialmente con el surgimiento de las células madre pluripotentes inducidas humanas. Estos avances han contribuido sinérgicamente al desarrollo de nuevas aplicaciones para los órganos en un chip. Sin embargo, queda mucho trabajo por hacer antes de que los corazones en un chip y los órganos en un chip se utilicen comúnmente en pruebas preclínicas. Son necesarias mejoras en áreas como el abastecimiento celular y, sobre todo, la realización de estudios comparativos de fármacos en los Órganos en un chip, en animales y en los propios humanos. Estos factores, entre otros, deben ser validados y estandarizados a la vez que se debe establecer un contexto de uso claro.

A pesar de su gran potencial y las puertas que abre esta tecnología, hay que ser realista y

saber ver los defectos y los obstáculos que también presenta. La complicación más frecuente es la inmadurez de las células derivadas de iPSCs, Se han reportado numerosos métodos para inducir su maduración, incluyendo condiciones mecánicas y estimulación eléctrica celular como se ha mencionado en esta revisión. Se espera que haya más desarrollo en el área de la maduración del tejido a medida que los órganos en un chip se vayan perfeccionando y vayan evolucionando. Además, la capacidad de modelar de manera holística las comorbilidades que a menudo acompañan a la disfunción cardiovascular en adultos todavía está sin resolver.

Los futuros desarrollos en esta nueva tecnología deberían centrarse en estrategias más efectivas para madurar el tejido, aumentar la complejidad fisiológica e integrar biosensores para el monitoreo continuo en tiempo real, pudiendo mejorar la precisión y la capacidad de cribado terapéutico preclínico y así como ayudando a aumentar la eficiencia y reducir los gastos del cada vez más costoso proceso de descubrimiento y aprobación de medicamentos.

Teniendo en cuenta todo lo mencionado en esta revisión, podemos decir con seguridad que estamos ante una tecnología que podría cambiar radicalmente los métodos de investigación de enfermedades y desarrollo de fármacos. Todos los avances realizados en los últimos 10 años son, probablemente, únicamente el comienzo de una tecnología que se desarrolla rápidamente y que proporciona alternativas a los problemas económicos, temporales e incluso éticos que siempre han rodeado a la industria farmacéutica. Finalmente, también abre la puerta a la posibilidad de ver reducciones reales en el uso de animales en investigación preclínica y la aplicación de enfoques más efectivos para el desarrollo de medicamentos y la medicina personalizada, así como la investigación básica en un futuro cercano.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Yesil-Celiktas O, Hassan S, Miri AK, Maharjan S, Al-kharboosh R, Quiñones-Hinojosa A, et al. Pathology-on-a-Chip: Mimicking Human Pathophysiology in Organ-on-Chip Devices (Adv. Biosys. 10/2018). Adv Biosyst. octubre de 2018;2(10).
2. Strelez C, Jiang HY, Mumenthaler SM. Organs-on-chips: a decade of innovation. Vol. 41, Trends in Biotechnology. Elsevier Ltd; 2023. p. 278-80.
3. Fanizza F, Campanile M, Forloni G, Giordano C, Albani D. Induced pluripotent stem cell-based organ-on-a-chip as personalized drug screening tools: A focus on neurodegenerative disorders. Vol. 13, Journal of Tissue Engineering. SAGE Publications Ltd; 2022.
4. Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Yuan Hsin H, Ingber DE. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. Science (1979). 25 de junio de 2010;328(5986):1662-8.
5. Kacey Ronaldson-Bouchard, Diogo Teles, Keith Yeager, Daniel N. Tavakol, Yimu Zhao, Alan Chramiec, et al. A multi-organ chip with matured tissue niches linked by vascular flow HHS Public Access Author manuscript. 2022;6(4):351-71. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41551-01X->
6. Cho S, Lee C, Skylar-Scott MA, Heilshorn SC, Wu JC. Reconstructing the heart using iPSCs: Engineering strategies and applications. Vol. 157, Journal of Molecular and Cellular Cardiology. Academic Press; 2021. p. 56-65.
7. Chang EA, Jin SW, Nam MH, Kim SD. Human induced pluripotent stem cells: Clinical significance and applications in neurologic diseases. Vol. 62, Journal of Korean Neurosurgical Society. Korean Neurosurgical Society; 2019. p. 493-501.
8. Aboul-Soud MAM, Alzahrani AJ, Mahmoud A. Induced pluripotent stem cells (Ipscs)—roles in regenerative therapies, disease modelling and drug screening. Vol. 10, Cells. MDPI; 2021.
9. Naithani N, Sinha S, Misra P, Vasudevan B, Sahu R. Precision medicine: Concept and tools. Vol. 77, Medical Journal Armed Forces India. Elsevier B.V.; 2021. p. 249-57.
10. Ingber DE. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. Vol. 23, Nature Reviews Genetics. Nature Research; 2022. p. 467-91.
11. Jodat YA, Kang MG, Kiaee K, Kim GJ, Martinez AFH, Rosenkranz A, et al. Human-Derived Organ-on-a-Chip for Personalized Drug Development. Curr Pharm Des. 11 de marzo de 2019;24(45):5471-86.
12. Ma C, Peng Y, Li H, Chen W. Organ-on-a-Chip: A New Paradigm for Drug Development. Vol. 42, Trends in Pharmacological Sciences. Elsevier Ltd; 2021. p. 119-33.
13. Macías Silva M. De la ficción a la realidad: órganos-en-chips al Servicio de la Ciencia y la Medicina. Revista Odontológica Mexicana. 2016;20(2):74-6.
14. Durkin K. Microfluidics. 2015.
15. Ma Q, Ma H, Xu F, Wang X, Sun W. Microfluidics in cardiovascular disease research: state of the art and future outlook. Vol. 7, Microsystems and Nanoengineering. Springer Nature; 2021.
16. Singh VK, Seed TM. Acute radiation syndrome drug discovery using organ-on-chip platforms. Vol. 17, Expert Opinion on Drug Discovery. Taylor and Francis Ltd.; 2022. p. 865-78.
17. Danku AE, Dulf EH, Braicu C, Jurj A, Berindan-Neagoe I. Organ-On-A-Chip: A Survey of Technical Results and Problems. Vol. 10, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. Frontiers Media S.A.; 2022.
18. Regehr KJ, Domenech M, Koepsel JT, Carver KC, Ellison-Zelski SJ, Murphy WL, et al. Biological implications of polydimethylsiloxane-based microfluidic cell culture. Vol. 9, Lab on a Chip. Royal Society of Chemistry; 2009. p. 2132-9.
19. Yang Q, Xiao Z, Lv X, Zhang T, Liu H. Fabrication and Biomedical Applications of Heart-on-

- a-chip. *Int J Bioprint*. 2021;7(3):54-70.
20. Doherty EL, Aw WY, Hickey AJ, Polacheck WJ. Microfluidic and Organ-on-a-Chip Approaches to Investigate Cellular and Microenvironmental Contributions to Cardiovascular Function and Pathology. Vol. 9, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
  21. Colosi C, Shin SR, Manoharan V, Massa S, Costantini M, Barbetta A, et al. Microfluidic Bioprinting of Heterogeneous 3D Tissue Constructs Using Low-Viscosity Bioink. *Advanced Materials*. 27 de enero de 2016;28(4):677-684a.
  22. Paloschi V, Sabater-Lleal M, Middelkamp H, Vivas A, Johansson S, Van Der Meer A, et al. Organ-on-a-chip technology: A novel approach to investigate cardiovascular diseases. Vol. 117, *Cardiovascular Research*. Oxford University Press; 2021. p. 2742-54.
  23. Ye L, Swingen C, Zhang J. *Induced Pluripotent Stem Cells and Their Potential for Basic and Clinical Sciences*. 2013.
  24. Karagiannis P, Takahashi K, Saito M, Yoshida Y, Okita K, Watanabe A, et al. *Induced Pluripotent Stem Cells and Their Use in Human Models of Disease and Development*. *Physiol Rev* [Internet]. 2019;99:79-114. Disponible en: [www.prv.org](http://www.prv.org)
  25. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 25 de agosto de 2006;126(4):663-76.
  26. Jastrzebska E, Tomecka E, Jesion I. Heart-on-a-chip based on stem cell biology. Vol. 75, *Biosensors and Bioelectronics*. Elsevier Ltd; 2016. p. 67-81.
  27. Butler D, Reyes DR. Heart-on-a-chip systems: disease modeling and drug screening applications. Vol. 24, *Lab on a Chip*. Royal Society of Chemistry; 2024. p. 1494-528.
  28. Litviňuková M, Talavera-López C, Maatz H, Reichart D, Worth CL, Lindberg EL, et al. Cells of the adult human heart. *Nature*. 17 de diciembre de 2020;588(7838):466-72.
  29. Thiene G, Basso C, Cozza A, Zanatta A. The fascinating discovery of the electrical system in the heart: A story telling. *Int J Cardiol*. 15 de octubre de 2020;317:81-5.
  30. Who. *World Health Statistics 2023 Monitoring health for the SDGs Sustainable Development Goals HEALTH FOR ALL* [Internet]. 2023. Disponible en: <https://www.who.int/publications/book-orders>.
  31. Mourad O, Yee R, Li M, Nunes SS. *Modeling Heart Diseases on a Chip: Advantages and Future Opportunities*. Vol. 132, *Circulation Research*. Lippincott Williams and Wilkins; 2023. p. 483-97.
  32. Wu Q, Liu J, Wang X, Feng L, Wu J, Zhu X, et al. Organ-on-a-chip: Recent breakthroughs and future prospects. Vol. 19, *BioMedical Engineering Online*. BioMed Central Ltd.; 2020.
  33. Gu B, Han K, Cao H, Huang X, Li X, Mao M, et al. Heart-on-a-chip systems with tissue-specific functionalities for physiological, pathological, and pharmacological studies. Vol. 24, *Materials Today Bio*. Elsevier B.V.; 2024.
  34. Andrysiak K, Stępniewski J, Dulak J. Human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes, 3D cardiac structures, and heart-on-a-chip as tools for drug research. Vol. 473, *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 1061-85.
  35. Marvin MJ, Di Rocco G, Gardiner A, Bush SM, Lassar AB. Inhibition of Wnt activity induces heart formation from posterior mesoderm. *Genes Dev*. 1 de febrero de 2001;15(3):316-27.
  36. Lian X, Hsiao C, Wilson G, Zhu K, Hazeltine LB, Azarin SM, et al. Robust cardiomyocyte differentiation from human pluripotent stem cells via temporal modulation of canonical Wnt signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 3 de julio de 2012;109(27).
  37. Narula S, Yusuf S, Chong M, Ramasundarahettige C, Rangarajan S, Bangdiwala SI, et al. Plasma ACE2 and risk of death or cardiometabolic diseases: a case-cohort analysis. *The Lancet*. 3 de octubre de 2020;396(10256):968-76.
  38. Volpato V, Webber C. *Addressing variability in iPSC-derived models of human disease: Guidelines to promote reproducibility*. Vol. 13, *DMM Disease Models and Mechanisms*. Company of Biologists Ltd; 2020.

39. Rowe RG, Daley GQ. Induced pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery. Vol. 20, *Nature Reviews Genetics*. Nature Publishing Group; 2019. p. 377-88.
40. Eng G, Lee BW, Protas L, Gagliardi M, Brown K, Kass RS, et al. Autonomous beating rate adaptation in human stem cell-derived cardiomyocytes. *Nat Commun*. 19 de enero de 2016;7.
41. Bliley JM, S C Vermeer MC, Duffy RM, Batalov I, Kramer D, Tashman JW, et al. Dynamic loading of human engineered heart tissue enhances contractile function and drives a desmosome-linked disease phenotype. *Sci Transl Med [Internet]*. 2021;13:1817. Disponible en: <https://doi.org/10.5281/zenodo.5034507>
42. Wimmer RA, Leopoldi A, Aichinger M, Kerjaschki D, Penninger JM. Generation of blood vessel organoids from human pluripotent stem cells. *Nat Protoc [Internet]*. 2019;14(11):3082-100. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0213-z>
43. Khanna A, Oropeza BP, Huang NF. Cardiovascular human organ-on-a-chip platform for disease modeling, drug development, and personalized therapy. *J Biomed Mater Res A [Internet]*. 1 de abril de 2024;112(4):512-23. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37602>
44. Voges HK, Foster SR, Reynolds L, Parker BL, Devilée L, Quaife-Ryan GA, et al. Vascular cells improve functionality of human cardiac organoids. *Cell Rep*. 30 de mayo de 2023;42(5).
45. Ahn Y, An JH, Yang HJ, Lee DG, Kim J, Koh H, et al. Human blood vessel organoids penetrate human cerebral organoids and form a vessel-like system. *Cells*. 1 de agosto de 2021;10(8).
46. Werschler N, Penninger J. Generation of Human Blood Vessel Organoids from Pluripotent Stem Cells. *Journal of Visualized Experiments*. 20 de enero de 2023;2023(191).
47. Bertassoni LE, Cecconi M, Manoharan V, Nikkhah M, Hjortnaes J, Cristino AL, et al. Hydrogel bioprinted microchannel networks for vascularization of tissue engineering constructs. *Lab Chip*. 7 de julio de 2014;14(13):2202-11.
48. Lee SG, Kim YJ, Son MY, Oh MS, Kim J, Ryu B, et al. Generation of human iPSCs derived heart organoids structurally and functionally similar to heart. *Biomaterials*. 1 de noviembre de 2022;290.
49. Maiullari F, Costantini M, Milan M, Pace V, Chirivì M, Maiullari S, et al. A multi-cellular 3D bioprinting approach for vascularized heart tissue engineering based on HUVECs and iPSC-derived cardiomyocytes. *Sci Rep*. 1 de diciembre de 2018;8(1).
50. Ovics P, Regev D, Baskin P, Davidor M, Shemer Y, Neeman S, et al. Drug development and the use of induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes for disease modeling and drug toxicity screening. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1-42.
51. Hnatiuk AP, Briganti F, Staudt DW, Mercola M. Human iPSC modeling of heart disease for drug development. Vol. 28, *Cell Chemical Biology*. Elsevier Ltd; 2021. p. 271-82.
52. Abulaiti M, Yalikun Y, Murata K, Sato A, Sami MM, Sasaki Y, et al. Establishment of a heart-on-a-chip microdevice based on human iPSC cells for the evaluation of human heart tissue function. *Sci Rep*. 1 de diciembre de 2020;10(1).
53. Faulkner-Jones A, Zamora V, Hortigon-Vinagre MP, Wang W, Ardron M, Smith GL, et al. A Bioprinted Heart-on-a-Chip with Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes for Drug Evaluation. *Bioengineering*. 1 de enero de 2022;9(1).
54. Feyen DAM, McKeithan WL, Bruyneel AAN, Spiering S, Hörmann L, Ulmer B, et al. Metabolic Maturation Media Improve Physiological Function of Human iPSC-Derived Cardiomyocytes. *Cell Rep*. 21 de julio de 2020;32(3).
55. Heitner SB, Jacoby D, Lester SJ, Owens A, Wang A, Zhang D, et al. Mavacamten Treatment for Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy. *Ann Intern Med*. 4 de junio de 2019;170(11):741.
56. Sewanan LR, Shen S, Campbell SG. Mavacamten preserves length-dependent contractility

- and improves diastolic function in human engineered heart tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1 de marzo de 2021;320(3):H1112-23.
57. Gwilt M, King RC, Milne AA, Solca AM. Dofetilide, a new class III antiarrhythmic agent, reduces pacing induced heterogeneity of repolarisation in vivo. *Cardiovasc Res* [Internet]. 1 de noviembre de 1992;26(11):1102-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/cvr/26.11.1102>
  58. Yang Y, Liu A, Tsai CT, Liu C, Wu JC, Cui B. Cardiotoxicity drug screening based on whole-panel intracellular recording. *Biosens Bioelectron*. 15 de noviembre de 2022;216.
  59. Criscione J, Rezaei Z, Hernandez Cantu CM, Murphy S, Shin SR, Kim DH. Heart-on-a-chip platforms and biosensor integration for disease modeling and phenotypic drug screening. *Biosens Bioelectron*. 15 de enero de 2023;220.
  60. Charrez B, Charwat V, Siemons B, Finsberg H, Miller EW, Edwards AG, et al. In vitro safety “clinical trial” of the cardiac liability of drug polytherapy. *Clin Transl Sci*. 1 de mayo de 2021;14(3):1155-65.
  61. Kimura H, Sakai Y, Fujii T. Organ/body-on-a-chip based on microfluidic technology for drug discovery. Vol. 33, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. Japanese Society for the Study of Xenobiotics; 2018. p. 43-8.
  62. Cohn R, Thakar K, Lowe A, Ladha FA, Pettinato AM, Romano R, et al. A Contraction Stress Model of Hypertrophic Cardiomyopathy due to Sarcomere Mutations. *Stem Cell Reports*. 8 de enero de 2019;12(1):71-83.
  63. Streckfuss-Bömeke K, Tiburcy M, Fomin A, Luo X, Li W, Fischer C, et al. Severe DCM phenotype of patient harboring RBM20 mutation S635A can be modeled by patient-specific induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 1 de diciembre de 2017;113:9-21.
  64. Ramaswami R, Bayer R, Galea S. Precision Medicine from a Public Health Perspective. *Public Health* [Internet]. 2018;39:153-68. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth->
  65. Maceachern SJ, Forkert ND. Machine learning for precision medicine. Vol. 64, *Genome*. Canadian Science Publishing; 2021. p. 416-25.
  66. Wong E, Bertin N, Hebrard M, Tirado-Magallanes R, Bellis C, Lim WK, et al. The Singapore National Precision Medicine Strategy. *Nat Genet*. 1 de febrero de 2023;55(2):178-86.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis tutoras, las Dras. María Amor Hurlé González y Raquel García López. Su orientación, paciencia y valiosos comentarios han sido fundamentales para la realización de este trabajo de fin de grado. Su dedicación y compromiso a lo largo de este año han sido una fuente constante de inspiración y motivación. Gracias por creer en mí y por acompañarme en cada paso de este camino.

A mis padres y a mi hermano Santi, no tengo palabras suficientes para agradecerles su amor, apoyo incondicional y sacrificios. Mamá y papá, ustedes me han enseñado el valor del esfuerzo y la perseverancia, y sin su guía y confianza, este logro no habría sido posible. Gracias por estar siempre ahí para escucharme, aconsejarme y levantarme el ánimo en los momentos difíciles. Santi, gracias por ser siempre mi compañero de aventuras y mi mayor apoyo. Has estado conmigo en cada paso del camino y tu confianza en mí ha sido una fuente constante de motivación. Este éxito también es de ustedes, porque sin su aliento y apoyo, no habría sido posible. Les debo todo lo que soy y lo que he conseguido.

A mi grupo de amigos, gracias por estar siempre ahí, en los buenos y en los malos momentos. Vuestra amistad ha sido un pilar fundamental en mi vida y me ha dado la fuerza necesaria para seguir adelante. Gracias por las risas, el apoyo y por hacer que este viaje sea mucho más llevadero y divertido. Cada uno de ustedes ha dejado una huella imborrable en mi corazón y ha contribuido de manera única a mi crecimiento personal y académico. Las aventuras compartidas, los consejos y las interminables conversaciones han hecho de estos años una experiencia inolvidable. No habría sido lo mismo sin ustedes a mi lado, y por eso, les estaré eternamente agradecido.

A mi primero compañero de clase, luego compañero de piso, luego amigo y finalmente hermano. Pablo, gracias por ser esa persona especial en mi vida. Tu amistad, lealtad y comprensión han sido increíbles. Has estado a mi lado en cada momento importante y has sido una fuente constante de ánimo y confianza. No podría haber llegado hasta aquí sin tu apoyo. Además, quiero agradecer también a tus padres por acogerme en su hogar y por tratarme siempre con cariño y generosidad. Su apoyo y hospitalidad han sido un gran respaldo durante estos años. Pablo, tú y tu familia han sido un verdadero segundo hogar para mí, y les estoy profundamente agradecido.

Finalmente, quiero dedicar un especial agradecimiento a mis abuelos, que, aunque ya no están físicamente con nosotros, siempre los llevo en mi corazón. Su amor, enseñanzas y recuerdos han sido una fuente de inspiración y fortaleza. Sé que desde donde están, se sienten orgullosos de este logro y siempre les estaré agradecido por todo lo que me dieron.

Agradezco profundamente a todos los que han formado parte de mi vida: familiares, amigos, compañeros y los que ya no están. Cada uno ha dejado una huella única en mi camino.

Con todo mi cariño y gratitud,

Alejandro.