

Engenharia Tecidual como Terapia Alternativa ao Transplante de Miocárdio

Parente. C*, Malmonge. SM*

*Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, Brasil

carolina.parente@ufabc.edu.br

Abstract – *The search for an effective treatment to circumvent the symptoms caused by myocardial infarction is of great interest to researchers aiming healing the symptoms caused by cardiomyopathies that are the leading cause of death worldwide. Palliative treatments and invasive procedures seek to prolong the life of patients who are affected by this type of disease. In this regard, myocardial tissue engineering aims, with the use of natural and / or synthetic materials, to regenerate the heart muscle in whole or in part. The research by cell therapies and hydrogels that allow the adhesion and proliferation of cells is the object of study of researchers seeking alternatives to heart transplantation, an expensive technique that depends on a number of factors, such as organ donors and the use of immunosuppressive drugs after surgery. The aim of this article is to provide an overview of what has already been studied by researchers of the subject, in order to establish a guide for future researchers in the subject.*

Palavras-chave: *Biomaterials, Myocardial tissue engineering, Hydrogel.*

Introdução

O coração é uma bomba pulsátil responsável pelo transporte de sangue por todo o corpo. As doenças do miocárdio, o músculo cardíaco, que levam à sua disfunção são chamadas de cardiomiopatias e sua ocorrência pode estar relacionada a várias causas, como infecções, drogas e abuso de álcool, mutações genéticas, hipertensão e isquemia [1] [2].

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, as maiores causas de morte no mundo são as cardiomiopatias, com destaque para o infarto do miocárdio. Um dos motivos para tantas mortes é a falta de um tratamento eficaz após um episódio de infarto. Isso se dá, pois o músculo cardíaco tem dificuldades em se regenerar após a morte de uma quantidade considerável de células ou grandes períodos sem oxigenação, causados devido a um grande trauma [3].

O infarto do miocárdio é causado principalmente pela oclusão da artéria coronária, que ocasiona uma diminuição abrupta do fluxo sanguíneo para o músculo cardíaco, provocando alterações morfológicas e funcionais. Devido à falta de irrigação e fluxo sanguíneo, tecido cicatrizante começa a se formar no ventrículo esquerdo do coração, acarretando um remodelamento em sua forma anatômica [4] [5].

Tratamentos Atuais

O tratamento atual para infarto do miocárdio é baseado em terapia farmacológica paliativa, que no entanto não tem a capacidade de reverter a progressão da doença. Em estágios avançados, são necessários procedimentos invasivos, como angioplastia ou implantação de dispositivos de estimulação [6] [7].

No entanto, tanto as terapias baseadas em medicamentos quanto as invasivas não podem controlar adequadamente a progressão da doença até seu estágio final e eventualmente o implante de dispositivos de assistência e transplante cardíaco são as opções de tratamento definitivas [8] [9] [10].

As taxas crescentes de doenças vasculares, a falta de doadores de órgãos, as complicações associadas a tratamentos imunossupressivos, bem como procedimentos cirúrgicos altamente invasivos, complexos e dispendiosos são os principais problemas que justificam a demanda urgente de novas soluções para reparar o coração doente, que incluem terapia celular e engenharia de tecidos [11].

Engenharia Tecidual de Miocárdio

O uso de células tronco tem trazido à engenharia tecidual de miocárdio um novo objetivo para se trabalhar. Estudos que analisam o efeito de células tronco injetadas diretamente no miocárdio têm se mostrado positivos, mesmo que já tenha ficado claro que a maior parte dessas células morre devido à falta de um ambiente favorável e de estímulos mecânicos e elétricos para seu crescimento, não produzindo assim o

efeito de induzir a necessária revascularização e miogênese, que eventualmente promoveriam a completa regeneração do músculo e de suas propriedades físicas e morfológicas [12] [13].

Na tentativa de melhorar a eficiência deste método, pesquisadores propuseram uma abordagem de incorporação de matriz ou um estágio de cultura de células *in vitro* antes de recorrer ao transplante [14] [15].

Hidrogéis derivados de polímeros naturais, componentes dos diferentes tecidos biológicos, apresentam vantagens para a encapsulação de células, pois devido à similaridade com tecidos biológicos, favorecem a migração, fixação e proliferação de células durante a fase de regeneração e reparo de tecidos lesados, além de serem biorreabsorvíveis.

Diferentes hidrogéis foram empregados em pesquisas que buscam promover vasculogênese e angiogênese em tecidos isquêmicos há décadas, portanto, há uma quantidade muito grande de trabalhos sobre esse assunto [16].

A fibrina é um material atraente porque pode ser isolada do próprio sangue do paciente, é um transportador celular efetivo, sua taxa de degradação pode ser controlada e foi usada como selante cirúrgico por muitos anos [17] [18] [19]. Por essas razões, Menasché e colaboradores a escolheram como material de distribuição no primeiro caso clínico de uso de células estaminais embrionárias humanas (CEEs) para tratamento de insuficiência cardíaca grave. As CEEs foram comprometidas com cardiopatia e incorporadas em um arcabouço de fibrina, que foi coberto com uma aba pericárdica autóloga durante a cirurgia e suturado na área do infarto. O estudo demonstrou a viabilidade de gerar as células avaliadas e integrá-las em um arcabouço, mas, como isso ocorreu em apenas um paciente, não é possível tirar conclusões relacionadas à sua eficácia. No entanto, o estado funcional do paciente foi melhorado, o que ainda pode ser considerado uma realização excelente e encorajadora [20].

Sabendo que o colágeno é o componente mais abundante da Matriz Extracelular (MEC) miocárdica, Joanne e colaboradores produziram arcabouços de colágeno nanofibroso com cardiomiócitos derivados de células-tronco pluripotentes (hiPS-CM) e implantaram em um modelo de cardiomiopatia dilatada. Os resultados do estudo *in vivo* indicaram que o arcabouço poderia ser usado para a estabilização do coração do rato não isquemicamente dilatado [21] [22]. Serpooshan e colaboradores demonstraram que um invólucro de colágeno implantado no

miocárdio infartado em corações de ratos murinos adultos protegeu significativamente o tecido cardíaco da lesão nos níveis anatômico e funcional. A remodelação ventricular foi atenuada após o procedimento, mostrando redução de fibrose e formação de uma rede de vasos sanguíneos interconectados dentro do coração [23].

A albumina também foi utilizada para regeneração do miocárdio, uma vez que é a proteína plasmática mais abundante, é citocompatível, relativamente barata, muito elástica e pode ser extraída do plasma do paciente. Fleischer e colaboradores adicionaram trifluoroetanol (TFE) para produzir fios de albumina e construíram arcabouços de albumina por eletrofiação semeados com células cardíacas neonatais de ratos. Os resultados mostraram boa adesão celular e o crescimento de tecidos cardíacos funcionais, com fortes forças de contração [24].

Os hidrogéis derivados de MEC apresentam inconvenientes tais como diferenças de lote para lote e gelificação lenta após a injeção. É por isso que alguns afirmam que os peptídeos automontados, que formam hidrogéis através de reticulação química, variações de pH e alteração de temperatura, podem ser biomateriais mais interessantes para a engenharia tecidual de miocárdico. Bastings e colaboradores empregaram uma solução de ureido-pirimidinona (UPy) que forma um gel devido à variação de pH e adicionou o fator de crescimento de hepatócitos (HGF) e o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1). O hidrogel foi implantado via injeção por cateter em um modelo crônico de porco de infarto do miocárdio, e os resultados mostraram que, de fato, foi capaz de reduzir o colágeno cicatricial [25]. Vários outros peptídeos foram testados, de acordo com French, Somasuntharam e Davis [10].

Discussão

Diante da revisão apresentada, é possível observar que pesquisadores estão empenhados em encontrar alternativas cada vez mais eficientes para tratar os problemas causados pelas cardiomiopatias cardíacas, com especial foco no infarto do miocárdio, responsável pela maior causa de morte mundial.

A Engenharia Tecidual de Miocárdio (ETM) é uma área do conhecimento promissora, que une técnicas relacionadas aos biomateriais em concomitância com a cultura de células tanto *in vitro* como *in vivo*.

Um dos requisitos fundamentais para o sucesso da ETM é o biomaterial empregado na fabricação do arcabouço. É difícil encontrar materiais sintéticos que reproduzam fidedignamente as características específicas encontradas nos tecidos biológicos e, dessa maneira, diferentes combinações de materiais naturais (biológicos) e sintéticos são pesquisadas, com o intuito de se aproximar cada vez mais do biomaterial ideal. Enquanto os materiais biológicos possuem maiores chances de permitir a adesão e proliferação de células, a vantagem de se utilizar materiais sintéticos é que eles podem ser manipulados para atender às aplicações e necessidades específicas.

Outro aspecto importante é a morfologia do arcabouço. Nos órgãos musculares, a morfologia e a elasticidade da Matriz Extracelular (MEC) regulam a forma das células e coordenam a orientação das miofibrilas, influenciando na estrutura dos tecidos e sua força contrátil. Especificamente no coração, uma rede de MEC fibrilar fornece orientações que direcionam a sincronia espacial e temporal do desenvolvimento cardíaco [26] [27]. Pesquisadores forneceram evidências de que a topologia de superfície influencia fortemente a orientação dos cardiomiócitos e dos fibroblastos, sendo ainda mais significativa do que a estimulação elétrica - o que também é importante para uma melhor integração do implante no miocárdio [28] [29].

Além da microestrutura, outro critério essencial para a regeneração cardíaca é a rigidez do arcabouço, que deve preferencialmente apresentar um módulo de elasticidade (E) como o do tecido do miocárdio, pois materiais mais macios ou rígidos podem levar à diferenciação celular em outros tipos de células ou para uma organização de tecido não fisiológico. Uma vez que o E médio do tecido de um coração saudável está na faixa de 10 a 20 kPa, o E do arcabouço deve estar em torno desse valor, no entanto valores na faixa de 5 a 50 kPa podem ser aceitáveis. Por essa razão os hidrogéis são considerados os materiais mais adequados para a regeneração cardíaca, embora outros tipos de estruturas também venham sendo investigadas [30] [14].

Referências

[1] Sanbe A. Dilated Cardiomyopathy: A Disease of the Myocardium. *Biol Pharm Bull.* 2013;36(1):18-22.

[2] Boccaccini AR, Harding S. *Myocardial Tissue Engineering*. 1st ed. (Boccaccini AR, Harding S, eds.). Springer; 2011.

[3] Parsa H.; Ronaldson K.; Vunjak NG. Bioengineering methods for myocardial regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 96, p. 195-202, 2016.

[4] Pascual G, S. et al. Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials.

[5] Kurrelmeyer K, et al. Cardiac remodeling as a consequence and cause of progressive heart failure, *Clin. Cardiol.* 21 (1998) I14-I19.

[6] Kohli SK, Elliott P. Cardiac resynchronization therapy: The procedure and progress so far. *Br J Hosp Med.* 2005;66(8):469-473.

[7] Hawkins NM, et al. Selecting patients for cardiac resynchronization therapy: Electrical or mechanical dyssynchrony? *Eur Heart J.* 2006;27(11):1270-1281.

[8] Chen, et al. HA. Biomaterials in cardiac tissue engineering: Ten years of research survey. *Mater Sci Eng R Reports.* 2008;59(1):1-37. doi:10.1016/j.mser.2007.08.001

[9] Yusen RD, et al. The registry of the international society for heart and lung transplantation: Thirty-first adult lung and heart-lung transplant report - 2014; Focus theme: Retransplantation. In: *Journal of Heart and Lung Transplantation.* Vol 33. ; 2014:1009-1024. doi:10.1016/j.healun.2014.08.004.

[10] French KM, Somasuntharam I, Davis ME. Self-assembling peptide-based delivery of therapeutics for myocardial infarction. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;96:40-53. doi:10.1016/j.addr.2015.04.023.

[11] Zammaretti P, Jaconi M. Cardiac tissue engineering: Regeneration of the wounded heart. *Curr Opin Biotechnol.* 2004;15(5):430-434.

[12] Giraud M.; Tevaearai H. *Tissue Engineering Approaches for Myocardial Bandage: Focus on Hydrogel Constructs.* *Myocardial Tissue Engineering*, p. 165-185, 2010.

[13] Passier R, van Laake LW., Mummery CL.: Stem-cell-based therapy and lessons from the heart. *Nature* 453, 322-329 (2008).

[14] P Nardo, et al. Inherently Bio-Active Scaffolds: Intelligent Constructs to Model the Stem Cell Niche. In *Myocardial Tissue Engineering*, 1st ed., A. R. Boccaccini and S. Harding, Eds. 2011, pp. 24-47.

[15] Kempf H, Andree B, Zweigerdt R. Large-scale production of human pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;96:18-30.

- [16] Rufaihah AJ, Seliktar D. Hydrogels for therapeutic cardiovascular angiogenesis. In *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016.
- [17] Menasché P, et al. Human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors for severe heart failure treatment: First clinical case report. In *Eur. Heart J.*, vol. 36, no. 30, pp. 2011–2017, 2015.
- [18] Flanagan TC, et al. The in vitro development of autologous fibrin-based tissue-engineered heart valves through optimised dynamic conditioning, *Biomaterials*, vol. 28, no. 23, pp. 3388–3397, 2007.
- [19] Bellamy V, et al. Long-term functional benefits of human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors embedded into a fibrin scaffold. *J. Hear. Lung Transplant.*, vol. 34, no. 9, pp. 1198–1207, 2015.
- [20] Koh YG, et al. Long-term survival of AT-I in syngeneic myocardium cardiomyocyte grafts. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol*. 1993;264(5):H1727-H1733.
- [21] Joanne P, et al. Nanofibrous clinical-grade collagen scaffolds seeded with human cardiomyocytes induces cardiac remodeling in dilated cardiomyopathy. *Biomaterials*, vol. 80, pp. 157–168, 2016.
- [22] Kitsara M ,et al., Fabrication of cardiac patch by using electrospun collagen fibers. *Microelectron. Eng.*, vol. 144, pp. 46–50, 2015.
- [23] Serpooshan V, et al. The effect of bioengineered acellular collagen patch on cardiac remodeling and ventricular function post myocardial infarction. *Biomaterials*, vol. 34, no. 36, pp. 9048–9055, 2013.
- [24] Fleischer S, et al. Albumin fiber scaffolds for engineering functional cardiac tissues. *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 111, no. 6, pp. 1246–1257, 2014.
- [25] Bastings MMC, et al. A fast pH-switchable and self-healing supramolecular hydrogel carrier for guided, local catheter injection in the infarcted myocardium. *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 3, no. 1, pp. 70–78, 2014.
- [26] McCain ML, et al. Matrix elasticity regulates the optimal cardiac myocyte shape for contractility. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol. 306, no. 11, pp. H1525-39, 2014.
- [27] McCain ML, Parker KK. Mechanotransduction: The role of mechanical stress, myocyte shape, and cytoskeletal architecture on cardiac function. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, vol. 462, no. 1. pp. 89–104, 2011.
- [28] Au HTH, et al. Interactive effects of surface topography and pulsatile electrical field stimulation on orientation and elongation of fibroblasts and cardiomyocytes. *Biomaterials*, vol. 28, no. 29, pp. 4277–4293, 2007.
- [29] Bursac N,et al. Novel anisotropic engineered cardiac tissues: Studies of electrical propagation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 361, no. 4, pp. 847–853, 2007.
- [30] Kitsara M, et al. Fibers for hearts: A critical review on electrospinning for cardiac tissue engineering. *Acta Biomater.*, vol. 48, pp. 20–40, 2016.