

EVALUACIÓN DE LA GENERACIÓN DE TEJIDO CARDIACO *IN VITRO* CON EL USO DE BIORREACTORES DE PERFUSIÓN Y ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA.

Emmanuel Francisco S., Nancy G. Viveros M., Mario García L, Álvaro R. Lara R., Marcela Salazar G, Nohra E. Beltrán V., Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa, PCNI, CDMX 05348, emfrasso@gmail.com

Palabras clave: biorreactor eléctrico, andamio 3D, ingeniería de tejidos

Introducción. Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo, de las cuales las cardiopatías isquémicas son las de mayor incidencia, por ejemplo, el infarto agudo al miocardio (IAM) (1). Existen diferentes estrategias que buscan contrarrestar los índices de mortalidad de dichas enfermedades, tal es el caso de la ingeniería de tejido cardiaco; la cual se enfoca en el desarrollo *in vitro* de tejido muscular cardiaco para usos terapéuticos, a partir de biomateriales (andamios y nanopartículas), células y biorreactores (2). El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la perfusión y de la estimulación eléctrica sobre el cultivo de células cardiacas en andamios 3D para desarrollar tejido muscular cardiaco *in vitro*.

Metodología. Se sembraron células cardiacas de rata neonatal (edad: 3 días) en andamios de alginato-quitosano ($D_i = 5$ mm, $\delta = 1$ mm) a una densidad de 6.8×10^7 células/cm³ (constructo). Dos tipos de constructos fueron generados: 1) Control: 7 días en cultivo estático y 2) Biorreactor (BR): 3 días en cultivo estático + 4 días en cultivo dinámico en BR con perfusión (0.5 mL/min) y estimulación eléctrica (5 V, 1 Hz, 2 ms). Después de 7 días de cultivo los constructos fueron procesados con técnica histológica estándar, se realizaron cortes a diferentes profundidades con Hematoxilina & Eosina (H&E) y se evaluó la expresión de proteínas cardiacas mediante inmunohistoquímica para conexina 43 (Cx43), tropomiosina (TPM) y troponina T (TnT). Se cuantificó el área celular y la expresión de las proteínas cardiacas. Al menos 3 esferoides por nivel de cada tipo de constructo se consideraron para el análisis estadístico realizado con GraphPad Prism 7.0.

Resultados. Las células cardiacas en ambos tipos de constructos formaron estructuras circulares denominadas esferoides cardiacos, similares a los reportados en otros trabajos (3). Los cortes con H&E a diferentes profundidades mostraron que los constructos BR tienen mayor densidad de esferoides respecto a los constructos Control. Además, su distribución es homogénea en dirección radial y

longitudinal. Esta distribución no se encuentra en los constructos Control donde la mayoría de esferoides se encuentran en la superficie y periferia del andamio. Esto puede indicar que la perfusión, al proporcionar mayor cantidad de nutrientes y oxígeno en regiones profundas del andamio, favorece la migración celular al interior del constructo 3D y en general aumenta la viabilidad celular. La perfusión también tiene un efecto positivo en la estructura de los esferoides. Los esferoides de los constructos BR son 2.5 veces más grandes que los esferoides de los constructos Control: ($4888 \pm 1109 \mu\text{m}^2$ Vs $1815 \pm 330.1 \mu\text{m}^2$). Además, los esferoides BR poseen estructura compacta y definida en contraste con los esferoides Control que son amorfos y con menor grado de compactación.

Por otro lado, la mayor expresión de Cx43, TnT y TPM en los esferoides del grupo BR, indica mayor grado de madurez estructural y funcional respecto a los esferoides del grupo Control: Cx43 (1587 ± 332.6 Int.Total Vs 499.3 ± 47.01 Int.Total), TnT (511.5 ± 97.26 Int.Total Vs 436.3 ± 102 Int.Total) y TPM (1531 ± 402.2 Int.Total Vs 283.5 ± 48.01 Int.Total); lo cual puede estar vinculado con las bondades de la estimulación eléctrica, la cual favorece y promueve la comunicación y contracción celular.

Conclusiones. El cultivo de células cardiacas *in vitro* con estimulación eléctrica (5 V, 1 Hz, 2 ms) y perfusión (0.5 mL/min) ayuda a generar constructos cardiacos con esferoides cardiacos 2.5 veces más grandes, con distribución homogénea, integridad estructural y maduros respecto al grupo Control; por lo que nuestro biorreactor favorece y acelera el desarrollo de tejido muscular cardiaco *in vitro* y podría utilizarse para generar tejido muscular cardiaco *in vitro* con fines terapéuticos.

Agradecimiento. Al PNCI UAM-C, al HIMFG y al CONAcYT por el apoyo académico y económico.

Bibliografía.

1. Who.int. (2023) Las 10 principales causas de defunción
2. Akbarzadeh, A., Sobhani, S., Soltani Khaboushan, A., Kajbafzadeh, A. M. (2023) *Bioengineering*. 10(1): 106.
3. Liu Y, Zhang Y, Mei T, Cao H, Hu Y, Jia W, Wang J, Zhang Z, Wang Z, Le W, Liu Z. (2022) *Adv Sci (Weinh)*. 9 (9):2104299.