

Nanomatrices en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares

Livia López Noriega

Resumen—Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en los países desarrollados. En la actualidad, los principales métodos empleados para el tratamiento de estas enfermedades fallan al mejorar la supervivencia de los pacientes a largo plazo debido a la restenosis o la trombosis. La estrategia más prometedora para prevenir estos problemas es el uso de nanomatrices que imitan las características del endotelio, bien para el recubrimiento de los stents e implantes cardiovasculares, o bien como biomaterial para el diseño de vasos sanguíneos artificiales. Además, estas nanomatrices también se pueden usar como soporte para la implantación de células madre mesenquimales que regeneren el tejido cardíaco.

Palabras Claves— Nanomatrices, biomiméticos, implantes cardiovasculares, stents.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en los países desarrollados. En la actualidad, los principales métodos para el tratamiento de estas enfermedades son el uso de stents (dispositivos de forma cilíndrica que se implantan en el interior de las arterias para corregir el estrechamiento de las mismas) e implantes cardiovasculares. Sin embargo, el éxito de estas estrategias se ve mermado por el riesgo de restenosis y trombosis. La restenosis se produce por la proliferación de células del músculo liso, mientras que la trombosis está causada por la agregación de plaquetas. Normalmente, el endotelio segrega factores solubles, como el óxido nítrico, que ayudan a prevenir tanto la trombosis como la restenosis. Por lo tanto, los implantes deben imitar, en la medida de lo posible, las características de la matriz extracelular del endotelio. En este sentido, una de las estrategias más prometedoras es el diseño de nanomatrices biomiméticas que tienen características muy parecidas a la matriz extracelular del endotelio. Estas nanomatrices se pueden usar para recubrir los stents implantados o para fabricar vasos sanguíneos artificiales [1].

Además, algunos estudios recientes han demostrado que las nanomatrices también pueden ser empleadas como soporte para células madre, usadas para la regeneración del tejido cardíaco tras un infarto de miocardio [2].

En este artículo se revisan los avances conseguidos en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, gracias al diseño de nanomatrices que imitan la matriz extracelular del endotelio o el endocardio.

2. RECUBRIMIENTO DE STENTS E IMPLANTES CARDIOVASCULARES

Como se ha mencionado antes, los principales problemas

que surgen tras la implantación de un stent son la restenosis y la trombosis. Para evitar estos problemas, es necesario recubrir los stents con un biomaterial que impida la proliferación de células de músculo liso y la agregación de plaquetas, a la vez que debería promover la re-endotelización. En este sentido, la nanomatrix de péptidos anfífilos (PA) diseñada por Kushwaha et al. [1] supone una opción muy prometedora para recubrir y mejorar la re-endotelización de stents e implantes vasculares, y disminuir así el riesgo de restenosis y trombosis.

Esta matriz está formada por dos tipos de péptidos anfífilos: PA-YIGSR y PA-KKKKK. Ambos péptidos están formados por una secuencia sensible a la metaloproteasa-2 (MMP-2), unida a una cadena de 16 carbonos y, en cada caso, o bien a la secuencia YIGSR, que promueve la adhesión celular, o al residuo donador de óxido nítrico (NO), KKKKK. La secuencia sensible a la degradación de enzimas, junto con la secuencia de adhesión celular o la que conforma el residuo donador de óxido nítrico, suponen la parte hidrofílica de los péptidos, mientras que la cadena de 16 carbonos forma la cola hidrofóbica. Una de las ventajas de los péptidos anfífilos es que se autoensamblan en una estructura nanofibrilar con características parecidas a las de la matriz extracelular del endotelio. Para la síntesis de la nanomatrix se usó el método de evaporación del disolvente, empleando 5 μ l de dilución al 0.1% de PA, que se dejó secar durante una noche sobre una rejilla para Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, del inglés Transmission Electron Microscopy). La caracterización de la nanomatrix formada por el autoensamblaje de los péptidos anfífilos se realizó por TEM, directamente sobre la rejilla (Fig 1). Las imágenes obtenidas muestran el auto-ensamblaje de los péptidos en nanofibras de 7-8nm de diámetro y varias micras de longitud [1].

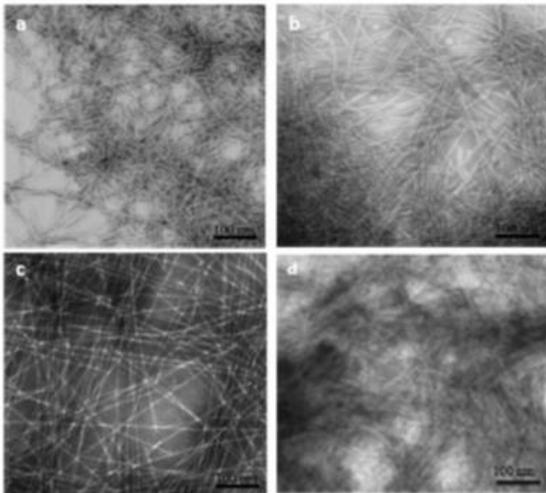


Figura 1. Imágenes TEM de la nanomatrix de péptidos anfifílicos. (a) PAYIGSR (b) PA-KKKKK (c) PA-YK y (d) PA-YK-NO [1].

La secuencia YIGSR es un péptido derivado de la laminina que promueve la adhesión específica de células endoteliales. De hecho, la laminina es uno de los componentes mayoritarios en la matriz extracelular del endotelio. Por tanto, la incorporación del péptido YIGSR a la nanomatrix es necesaria para promover la re-entotelización [3]. Por otro lado, la liberación de óxido nítrico es esencial, ya que este previene la agregación de las plaquetas y la proliferación de células de músculo liso. Además, el óxido nítrico también atrae a las células progenitoras endoteliales y promueve su diferenciación hacia el endotelio. Esto último es especialmente importante, ya que las células progenitoras endoteliales también pueden diferenciarse a músculo, lo que podría contribuir a la restenosis (Fig 2) [4]. Por otra parte, la secuencia sensible a la degradación de enzimas es necesaria para que la nanomatrix pueda ser remodelada *in vivo*, y mantiene un suministro de NO constante [1].

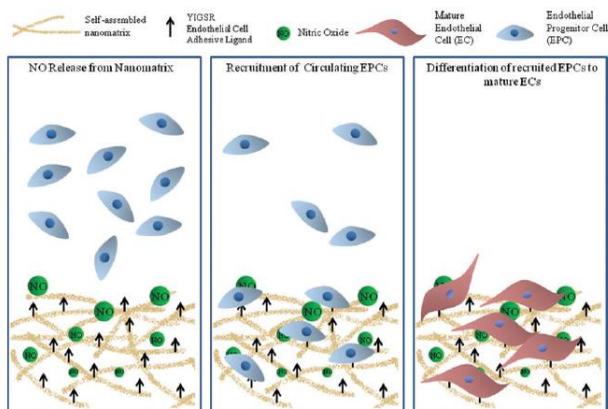


Figura 2. Representación esquemática de la nanomatrix y su efecto en las células progenitoras endoteliales [4].

En resumen, la utilización de una nanomatrix que tenga características bioquímicas parecidas al endotelio para el recubrimiento de stents e implantes cardiovasculares, es un gran avance, ya que disminuye el peligro de restenosis y trombosis.

3. FABRICACIÓN DE VASOS SANGUÍNEOS ARTIFICIALES.

En la actualidad existen varios vasos sanguíneos artificiales producidos con materiales sintéticos, como el Dracon, para reemplazar los vasos naturales defectuosos. Estos implantes han mostrado buenos resultados para diámetros internos de más de 6 mm. No obstante, cuando el vaso sanguíneo que se quiere reemplazar posee un diámetro menor, incrementa el riesgo de restenosis y trombosis. Por lo tanto, los vasos sanguíneos artificiales deben estar hechos de un material que imite las características del endotelio.

Como se ha mencionado en el apartado anterior, el endotelio segrega factores solubles vasodilatadores que son fundamentales para mantener la homeostasis vascular. Además, la estructura de la matriz extracelular del endotelio también le confiere unas propiedades mecánicas esenciales para soportar la tensión tangencial que ejerce la corriente sanguínea sobre la superficie endotelial. Por tanto, el biomaterial usado para la fabricación de vasos sanguíneos artificiales debería aunar todas estas características [5].

Se han desarrollado nanomatrices de polímeros creadas por el método de electrohilado que tienen una estructura bastante parecida a la de la matriz extracelular del endotelio, lo que también les confiere propiedades mecánicas similares a las de éste. La técnica de electrohilado o electrospinning consiste en aplicar un alto voltaje a una disolución polimérica, confiriéndole una carga eléctrica (polo positivo). Esta solución sale por la aguja de una jeringuilla que está conectada a la fuente de alimentación y es atraída por un plato colector que está conectado a una polaridad diferente (polo negativo). El disolvente se evapora en el camino al colector y se forman fibras con diámetros comprendidos en la nanoescala. Además, las nanofibras pueden ser depositadas en un eje rotatorio para formar una estructura tubular, lo cual es imprescindible en la fabricación de un vaso sanguíneo artificial [5, 6]. Las nanofibras de polímeros sintéticos, como polidioxanona (PDO), poliprolactona (PCL) o poli(L-lactico-co-ε-caprolactona) (PLCL), generadas mediante la técnica de electrohilado, tienen buenas propiedades mecánicas y soportan la tensión generada por la corriente sanguínea. Sin embargo, al estar formadas solo por polímeros sintéticos, no favorecen la filtración de células, lo que hace que sean reconocidas como "extrañas" por el cuerpo y se cree tejido fibrótico alrededor [6, 7].

Por otro lado, también se han creado nanomatrices compuestas por polímeros naturales usando el método de electrohilado. Por ejemplo, las nanofibras formadas por colágeno y elastina (los componentes mayoritarios de la matriz extracelular de los tejidos vasculares) promueven la adhesión, migración y proliferación de células endoteliales, y han sido propuestas como soporte para la fabricación de vasos sanguíneos artificiales. Sin embargo, éstas

nanoestructuras no tienen muy buenas propiedades mecánicas [7].

Recientemente se han diseñado nanomatrices híbridas, compuestas por una combinación de polímeros naturales y sintéticos, para su uso en ingeniería de tejidos vasculares. Entre ellas cabe destacar las compuestas por PDO y elastina y las compuestas por PLCL y colágeno. Ambas nanomatrices muestran las propiedades mecánicas de aquellas compuestas por polímeros sintéticos, pero, además, promueven la filtración de células, lo que puede ayudar a la re-entotelización del tejido. Sin embargo, los estudios realizados hasta el momento no contemplan la posible agregación de plaquetas en estas estructuras [6, 7]. En este sentido, es posible que la nanomatrix híbrida diseñada por Andakuri *et al.* solucione este problema. Esta nanomatrix combina las propiedades de las nanofibras de PCL generadas por el método de electrohilado y las propiedades de la nanomatrix formada por péptidos anfifílicos descrita en el apartado anterior (Fig 3). Para sintetizar esta nanomatrix, los péptidos anfifílicos se auto-ensamblaron, formando nanofibras mediante el método de evaporación del disolvente, sobre la nanomatrix de PCL, previamente creada por el método de electrohilado. La nanomatrix híbrida resultante, presenta las propiedades mecánicas de las nanomatrices de PCL, a la vez que promueve la adhesión de células progenitoras endoteliales (gracias a PA-YIGSR) y libera óxido nítrico para prevenir el riesgo de restenosis y trombosis (gracias a PA-KKKKK). Por lo tanto, puede tener un gran potencial para la fabricación de vasos sanguíneos artificiales [5].

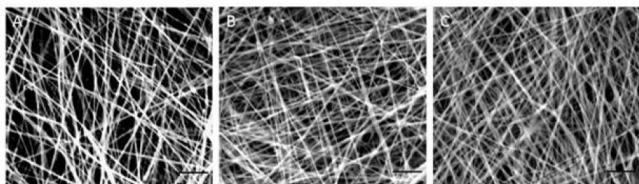


Figura 3. Imágenes obtenidas por SEM (scanning electron microscope) a 5000x. (A) ePCL. (B) ePCL-PA-YK (C) ePCL-PAYK-NO. Escala = 5µm [5].

4. SOPORTE PARA TERAPIA CÉLULAR EN LA REGENERACIÓN DE TEJIDO CARDIACO.

La terapia celular con células madre mesenquimales, derivadas del cordón umbilical, está mostrando resultados prometedores para la regeneración del tejido cardíaco tras un infarto de miocardio. Estas células pueden ser inyectadas por vía intravenosa o directamente en el miocardio. Sin embargo, alrededor del 80-90% de las células introducidas por este método mueren a las 72 horas de ser inyectadas, lo que limita su uso terapéutico. Para solucionar este problema, se ha visto que las células pueden ser cultivadas en una nanomatrix y posteriormente implantadas. En este sentido, nanofibras de PCL generadas por la técnica de electrohilado han sido utilizadas en varios estudios para promover la regeneración del tejido cardíaco. Para mejorar aun más la adhesión de las células madre mesenquimales, se puede, además, inmovilizar la proteí-

na fibronectina en las nanofibras de PCL (Fig 4). Esta proteína se encuentra de forma natural en la matriz extracelular del tejido cardíaco, y se ha demostrado que promueve la adhesión de células madre mesenquimales. Por tanto, esta estrategia parece una solución prometedora para los problemas encontrados en la regeneración del tejido cardíaco tras un infarto de miocardio.

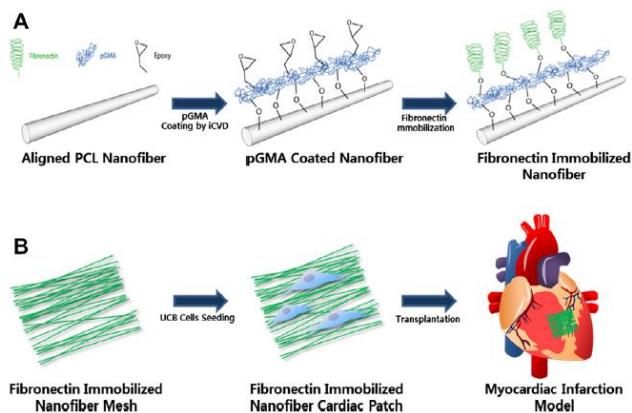


Figura 4. Representación esquemática de la fabricación de la nanofibras para su uso en terapia celular para la regeneración de miocardio.

5. CONCLUSIONES

Los stents e implantes cardiovasculares usados convencionalmente en la actualidad, tienen un alto riesgo de restenosis y trombosis. Por lo tanto, son solo soluciones temporales, que no logran del todo mejorar la supervivencia de los pacientes a largo plazo. Para mejorar la supervivencia de los pacientes, es necesario mejorar el diseño de los implantes, de manera que se asemejen lo máximo posible al tejido vascular. En este sentido, el diseño de nanomatrices que imitan la estructura y las características bioquímicas del endotelio son una estrategia muy prometedora, ya que previenen la agregación de plaquetas y la proliferación de células del músculo liso, a la vez que promueven la re-entotelización del implante o el stent. Además, también se ha propuesto el uso de nanomatrices como soporte para implantar células madre mesenquimales que promuevan la regeneración del tejido cardíaco infartado.

REFERENCIAS

- [1] M. Kushwaha, J.M. Anderson, C.A. Bosworth, A. Andakuri, W.P. Minor, J.R. Lancaster, P.G. Anderson, B.C. Brott, and H. Jun, "A Nitric Oxide Releasing, Self Assembled Peptide Amphiphile Matrix that Mimics Native Endothelium for Coating Implantable Cardiovascular Devices" *Acta Biomaterialia*. 2011, 7(1): 225-233; doi:10.1016/j.actbio.2010.08.013.
- [2] B. Kang, H. Kim, S.K. Lee, J. Kim, Y. Shen, S. Jung, K. Kang, S.G. Im, S.Y. Lee, M. Choi, N.S. Hwang, and J. Cho, "Umbilical-cord-blood-derived mesenchymal stem cells seeded onto fibronectin-immobilized polycaprolactone nanofiber improve cardiac function" *Acta Biomaterialia*. 2014, 10(7): 3007-

3017; doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.013>

- [3] A. Andukuri, W.P. Minor, M. Kushwaha, J.M. Anderson, and H. Jun, "Effect of endothelium mimicking self-assembled nanomatrices on cell adhesion and spreading of human endothelial cells and smooth muscle cells" *Nanomedicine*. 2010, 6(2): 289-297; doi:10.1016/j.nano.2009.09.004.
- [4] A. Andukuri, Y. Sohn, C. P. Anakwenze, D. Lim, B.C. Brott, Y. Yoon, and H. Jun, "Enhanced Human Endothelial Progenitor Cell Adhesion and Differentiation by a Bioinspired Multifunctional Nanomatrix" *Tissue engineering: Part C*. 2013, 19(5): 375-385; DOI: 10.1089/ten.tec.2012.0312
- [5] A. Andukuri, M. Kushwaha, A. Tambralli, J.M Anderson, D.R. Dean, J.L Berry, Y. Sohn, Y. Yoon, B.C. Brott, and H. Jun, "A hybrid biomimetic nanomatrix composed of electrospun polycaprolactone and bioactive peptide amphiphiles for cardiovascular implants" *Acta Biomaterialia*. 2011, 7(1): 225-233; doi:10.1016/j.actbio.2010.08.013
- [6] M.J. Smith, M.J. McClure, S.A. Sell, C.P. Barnes, B.H. Walpoth, D.G. Simpson, G.L. Bowlin "Suture-reinforced electrospun polydioxanone-elastin small-diameter tubes for use in vascular tissue engineering:A feasibility study" *Acta Biomaterialia*. 2008, 4(1): 58-66; doi:10.1016/j.actbio.2007.08.001
- [7] W. Fu, Z. Liu, B. Feng, R. Hu, X. He, H. Wang, M. Ying, H. Huang, H. Zhang, W. Wang "Electrospun gelatin/PCL and collagen/PLCL scaffolds for vascular tissue engineering." *International Journal of Nanomedicine*. 2014, 9(1): 2335 - 2344; DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S61375>.



Livia López Noriega, graduada en Biología por la universidad Oxford Brookes. Actualmente cursa el master en Biotecnología Sanitaria de la universidad de Pablo de Olavide.