

Evaluación Computacional de la Arquitectura de la Matriz de Cultivo en la Electrofisiología Cardíaca

Ricardo Maximiliano Rosales¹, Konstantinos Mountris¹, Manuel Doblaré², Manuel Mazo³, Esther Pueyo¹

¹ Biomedical Signal Interpretation & Computational Simulation (BSICoS)

² Tissue Micro-Environment (TME)

³ Universidad de Navarra, Pamplona, Spain

Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)

Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.

Tel. +34-976762707, e-mail: rrosales@unizar.es

Resumen

Los cardiomiocitos derivados de células madre cultivados en matrices bioimpresas muestran resultados prometedores en medicina regenerativa. Este trabajo caracterizó el impacto de la geometría de la matriz en la electrofisiología del complejo tejido-matriz. Los poros hexagonales alargados alcanzaron una activación más fisiológica que sus pares rectangulares, auxéticos o hexagonales regulares.

Introducción

El trasplante de cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC-CMs) en regiones ventriculares dañadas puede contribuir a restaurar la función cardíaca [1]. Diversos estudios han mostrado que el cultivo en matrices de estas células mejora el acoplamiento intercelular y produce una orientación celular biomimética [2]. Dado que las regiones de conducción lenta en un tejido favorecen la aparición de arritmias por reentrada, es aconsejable que el tiempo de activación (TA) en el complejo de reemplazo sea lo más similar posible al del tejido nativo que se ha perdido. El modelado y la simulación eléctrica cardíaca han demostrado capacidad para replicar eventos arrítmicos en hiPSC-CMs [3]. En este trabajo, se evaluó computacionalmente la activación eléctrica de hiPSC-CMs para distintas geometrías de la matriz de cultivo.

Métodos

La electrofisiología de los hiPSC-CMs se representó mediante un modelo de potencial de acción con fenotipo ventricular [3]. La propagación eléctrica entre cardiomiocitos se describió mediante el modelo monodominio. Se usó el método de elementos finitos

para resolver la ecuación de propagación utilizando representaciones en malla de los hiPSC-CMs cultivados (tejido) y de las matrices [4]. El espacio internodal del tejido se fijó en 31 μm y la relación de conductividad transversal-longitudinal en 0.15, en concordancia con la anisotropía de la velocidad de conducción del tejido cardíaco. Se aplicaron estímulos cuadrados de 5 nA de magnitud, 2 ms de duración y 1 Hz de frecuencia.

Se analizaron registros eléctricos obtenidos de hiPSC-CMs cultivados en matrices con poros cuadrados de 200 μm de lado. Estos cultivos 3D se mapearon ópticamente para obtener mediciones de alta resolución de los transitorios de calcio a lo largo del tiempo. En este trabajo, se procesaron las imágenes recogidas para obtener los mapas de TA para cada cultivo. Se procedió al mallado y a la posterior clasificación de los nodos en grupos. La corriente de estimulación se aplicó al grupo de nodos con menor TA. Inicialmente, los nodos del tejido se orientaron aleatoriamente con ángulos de entre 0 y 180 grados, alineando posteriormente con las paredes de la matriz aquellos nodos que se encontraban a una distancia menor de 27 μm de ésta. Como último paso, se ajustó la conductividad para hacer coincidir los TA máximos entre el mapa simulado y el experimental (Figura 1).

Para evaluar diferentes geometrías de poros, se generaron mallas de 2x4 mm² en 2D. En el caso 3D, se agregó un espesor de 0.45 mm. Para enfatizar el efecto de la geometría de los poros, se realizaron análisis en los que el umbral de alineación se incrementó a 65 μm . Se asoció un coeficiente de difusión longitudinal de $4.22 \times 10^{-4} \text{ cm/ms}^2$ con una alineación del 100% de los nodos tisulares y se estableció una relación lineal entre los porcentajes de alineación y los correspondientes coeficientes de difusión. Las formas de poro analizadas fueron: rectangular; hexagonal alargada con ángulos de 120,

100, 80 y 60 grados; y auxética perpendicular y paralela a la dirección de depolarización. Todos los tipos de poros poseen un área equivalente de 0.4 mm^2 . Los casos rectangulares, auxéticos en paralelo y hexagonales alargados en 60 grados se estudiaron además con un tamaño de malla de mayor relevancia clínica correspondiente a $5 \times 20 \times 0.45 \text{ mm}^3$.

Resultados

Como se observa en la Figura 1, al ajustar el coeficiente de difusión se obtuvieron valores máximos de TA muy similares entre el experimento y la simulación, con diferencias menores de 1 ms. Las siete arquitecturas de matriz analizadas arrojaron tendencias similares en los valores máximos de TA para las simulaciones 2D en comparación con las simulaciones 3D. Los porcentajes de alineación tisular para poros hexagonales incrementaron al aumentar el estiramiento de los hexágonos. Aunque la alineación fue mayor para las configuraciones rectangulares y auxéticas que para las hexagonales, el TA resultó menor para los hexágonos alargados en 60 grados. Como era de esperar, se encontraron valores mayores de TA al aumentar el tamaño tejido-matriz. También para estas mallas de mayor tamaño se encontró que la geometría hexagonal más alargada conduce a una propagación más rápida, siendo el TA 36 ms más rápido que para las restantes, como se muestra en la Figura 2.

Conclusión

Mediante modelado y simulación electrofisiológica computacional se caracterizó la activación eléctrica de hiPSC-CMs cultivados en matrices y se reprodujeron los mapas de activación registrados experimentalmente en matrices con poros cuadrados. Al evaluar computacionalmente diversas formas de poros, demostramos que, aunque los hexágonos alargados se asociaban con una menor alineación

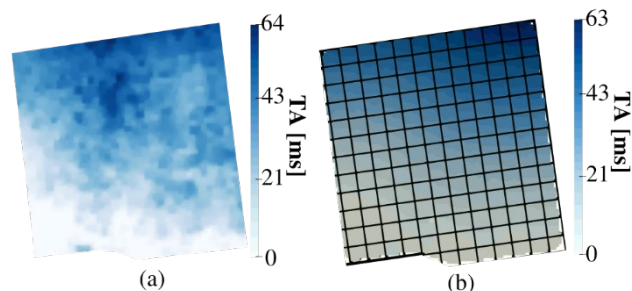


Fig. 1. Mapas de TA: experimental (a) y simulado (b).

celular general, estos dan lugar a una conducción más rápida debido a la mayor alineación en paralelo a la dirección de propagación. Por lo tanto, los hexágonos alargados en 60 grados minimizarían el riesgo de arritmia tras el trasplante de la estructura tejido-matriz en un corazón dañado. Estos resultados sientan las bases para nuevas investigaciones en el área de ingeniería de tejidos encaminadas a garantizar la restauración de la funcionalidad cardíaca evitando alteraciones proarrítmicas significativas.

REFERENCIAS

- [1]. LEOR, J., AMSALEM, Y. y COHEN, S., 2005a. Cells, scaffolds, and molecules for myocardial tissue engineering. *Pharmacology & Therapeutics*, vol. 105, no. 2, pp. 151-163. ISSN 01637258. DOI 10.1016/j.pharmthera.2004.10.003.
- [2]. CASTILHO, M., MIL, A. van, MAHER, M., METZ, C.H.G., HOCHLEITNER, G., GROLL, J., DOEVENDANS, P.A., ITO, K., SLUIJTER, J.P.G. y MALDA, J., 2018b. Melt Electrowriting Allows Tailored Microstructural and Mechanical Design of Scaffolds to Advance Functional Human Myocardial Tissue Formation. *Advanced Functional Materials*, vol. 28, no. 40, pp. 1803151. ISSN 1616-3028. DOI <https://doi.org/10.1002/adfm.201803151>.
- [3]. PACI, M., HYTTINEN, J., AALTO-SETÄLÄ, K. y SEVERI, S., 2013c. Computational Models of Ventricular- and Atrial-Like Human Induced Pluripotent Stem Cell Derived Cardiomyocytes. *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 41, no. 11, pp. 2334-2348. ISSN 0090-6964, 1573-9686. DOI 10.1007/s10439-013-0833-3.
- [4]. MOUNTRIS, K.A. y PUEYO, E., 2021d. The Radial Point Interpolation Mixed Collocation (RPIMC) Method for the Solution of the Reaction-Diffusion Equation in Cardiac Electrophysiology. En: S.N. ATLURI y I. VUŠANOVIĆ (eds.), *Computational and Experimental Simulations in Engineering*. Cham: Springer International Publishing, pp. 39-44. ISBN 978-3-030-67090-0.

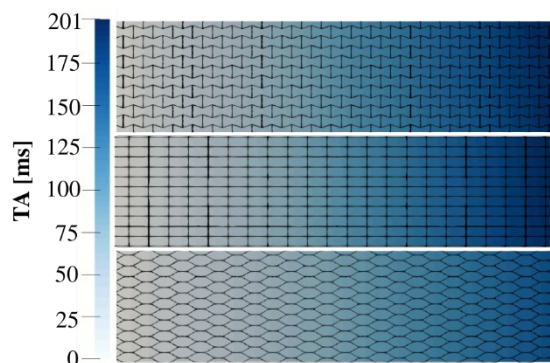


Fig. 2. TA para geometrías auxética paralela, rectangular y hexagonal alargada en 60 grados con tamaño $5 \times 20 \times 0.45 \text{ mm}^3$.