

## Avanços biotecnológicos da engenharia de tecidos aplicáveis ao tratamento das lesões do ligamento cruzado anterior

Biotechnological advances in tissue engineering applicable to the treatment of injuries of the anterior cross ligament

Thiago Rodrigues Cavalcante<sup>1\*</sup>, Michelle Vertoni Homs<sup>1</sup>, Isabela Bonatto<sup>1</sup>, Soraia El Hassan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisa Avançada em Medicina da Faculdade de Medicina da União das Faculdades dos Grandes Lagos – UNILAGO, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

[\*Autor correspondente: [trcavalcant@gmail.com](mailto:trcavalcant@gmail.com)]

Data de submissão: 02 de setembro de 2022

Data de aceite: 27 de outubro de 2022

Data de publicação: 21 de novembro de 2022

### RESUMO

O ligamento cruzado anterior (LCA) promove a estabilização da tíbia contra o aumento da translação anterior e da rotação interna. Porém, é uma das estruturas do joelho mais comumente lesadas, mudando a biomecânica e a cinemática da articulação resultando em instabilidade e perda de função. A ruptura do ligamento cruzado anterior LCA apresenta uma alta incidência na população economicamente ativa, mais comumente em indivíduos jovens e ativos e pode ter impactos físicos e psicológicos negativos a longo prazo. Os tratamentos preconizados são conservador e cirúrgico. Este estudo tem por objetivo identificar os avanços biotecnológicos da engenharia de tecidos aplicáveis das lesões do ligamento cruzado anterior como um meio de alcançar melhores resultados. Trata-se de estudo revisional de literatura de caráter bibliográfico exploratório descritivo de abordagem qualitativa, exploratória embasada em artigos indexados nas seguintes bases de dados eletrônicas: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe de Ciências da Saúde (*Lilacs*) e *PubMED*. Conclui-se que as pesquisas na área de engenharia de tecidos para o LCA destacam-se os *scaffolds* pela sua versatilidade capacidade de combinar inúmeros materiais diferentes, as células-tronco pluripotentes HiPSCs e células-tronco mesenquimais (CTM) originária da LCA, a técnica de eletrospinning e o procedimento *Bridge-Enhanced ACL Repair* (BEAR) são técnicas que já apresentam resultados promissores no tratamento das lesões de LCA e num futuro próximo podem substituir as cirurgias em vários casos.

**Palavras Chaves:** Lesão do joelho; Ruptura do ligamento cruzado; Engenharia de tecidos.

### ABSTRACT

The anterior cruciate ligament (ACL) promotes stabilization of the tibia against increased anterior translation and internal rotation. However, it is one of the most commonly injured knee structures, changing the biomechanics and kinematics of the joint resulting in instability and loss of function. ACL rupture has a high incidence in the economically active population, most commonly in young and active individuals, and can have long-term negative physical and psychological impacts. The recommended treatments are conservative and surgical. This study aims to identify biotechnological advances in tissue engineering applicable to anterior cruciate ligament injuries as a means of achieving better outcomes. This is a literature review of a descriptive exploratory bibliographic character with a qualitative, exploratory approach based on articles indexed in the following electronic databases: *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Latin American and Caribbean Literature on Health Sciences (*Lilacs*) and *PubMED*. It is concluded that research in the area of tissue engineering for the anterior cruciate ligament highlights the scaffolds for their versatility, ability to combine numerous different materials, pluripotent stem cells HiPSCs and mesenchymal stem cells (MSC) originating from the ACL, the technique of electrospinning technique and the *Bridge-Enhanced ACL Repair* (BEAR) procedure are techniques that already show promising results in the treatment of ACL injuries and in the near future may replace surgeries in several cases.

**Keywords:** Knee injury; Rupture of the cruciate ligament; tissue engineering.

## INTRODUÇÃO

A função do ligamento cruzado anterior (LCA) juntamente com o ligamento cruzado posterior é estabilizador central do joelho. Promovendo a estabilização da tibia contra o aumento da translação anterior e da rotação interna<sup>1</sup>.

Porém, é umas das estruturas do joelho mais comumente lesadas, mudando a biomecânica e a cinemática da articulação resultando em instabilidade e perda de função<sup>2</sup>.

A ruptura do LCA apresenta uma alta incidência na população economicamente ativa, mais comumente em indivíduos jovens e ativos e pode ter impactos físicos e psicológicos negativos a longo prazo<sup>3,4</sup>.

Existem vários fatores de risco que propicia a ruptura do LCA descritos na literatura científica, como: atletas de alta competição de praticante de manobras rápidas de mudança de direção e saltos como a “cuting maneuver” e em desequilíbrio, sexo feminino devido a postura anatômica de maior extensão a nível do membro inferior, maior valgismo e abdução do joelho e maior rotação interna da anca, contração mais tardia dos músculos isquiotibiais, menor força muscular global, maior laxidão articular e balanço do quadricípete/isquiotibiais inadequado<sup>2</sup>.

A lesão de LCA desencadeia consequência em cerca de 40% a 90% dos pacientes, que desenvolvem dor no joelho, limitações recreativas, perda qualidade de vida, sedentarismo, estilo de vida fisicamente inativo, osteoartrose sintomática do joelho ou outra patologia meniscal, provavelmente devido a

mecânica alterada<sup>2,3</sup>.

Na Alemanha, a incidência de lesão de LCA é de 46/100.000, se confirmando como uma das lesões esportivas mais comuns<sup>(1)</sup>. Nos EUA são 250.000 indivíduos sofrem de ruptura do LCA por ano<sup>3</sup>.

O diagnóstico é realizado com uma combinação de história do paciente, exame clínico e, se apropriado, exames de imagem<sup>3,4</sup>.

O tratamento para um indivíduo com ruptura do LCA objetiva restaurar a função do joelho, retomar a participação na atividade, prevenir mais lesões no joelho, reduzir o risco de osteoartrite do joelho e otimizar qualidade de vida de longo prazo<sup>3</sup>.

O tratamento “Gold-Standard” é o cirúrgico, sendo o mais indicado a reconstrução do LCA com enxerto autólogo de tendão, autoenxerto dos tendões isquiotibiais ou do tendão patelar para pacientes jovens e atletas, pois reduz o risco de outras lesões relevantes do menisco e da cartilagem. Em casos selecionados, a preservação do LCA por refixação artroscópica também é recomendada<sup>1,2</sup>.

Apesar da evolução das técnicas cirúrgicas, maior qualidade na resolução dos exames imagem e aumento da tecnologia nos procedimentos, e os bons resultados da reconstrução do LCA, as técnicas atuais apresentam seus próprios desafios e problemas potenciais<sup>5</sup>. Como a diminuição da força dos isquiotibiais, dor anterior no joelho, perda de propriocepção e risco de futuras osteoartrites<sup>6</sup>.

A engenharia de tecidos tem por objetivo induzir o reparo, a substituição ou regeneração do tecido utilizando uma combinação de células,

*scaffolds* e moléculas biologicamente ativas para produzir um tecido funcional<sup>7</sup>.

Os bioengenheiros enfrentam o desafio de encontrar os melhores biomateriais adequados e combinação que possam imitar a estrutura anisotrópica do tecido ligamentar e promover a adesão, ou diferenciação celular de ligamentócito, ao mesmo tempo que possuam as propriedades mecânicas corretas. Para desenvolver um tecido viável para substituição de tecido, um substituto projetado deve ter características semelhantes e comparáveis ao tecido nativo. Ou fornecer arcabouços e meios de potencializar a regeneração celular local<sup>7</sup>.

Este estudo teve por objetivo identificar, por meio de um estudo de revisão bibliográfica, os avanços biotecnológicos da engenharia de tecidos aplicáveis das lesões do ligamento cruzado anterior como uma alternativa de tratamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de estudo revisional de literatura de caráter bibliográfico exploratório descritivo de abordagem qualitativa, embasada em leitura exploratória sobre avanços biotecnológicos da engenharia de tecidos aplicáveis ao tratamento das lesões do ligamento cruzado anterior.

Para orientar esta revisão formulou-se a seguinte questão norteadora elaborada utilizando a estratégia PICO. Quais são os avanços biotecnológicos da engenharia de tecidos aplicáveis ao tratamento das lesões do ligamento cruzado anterior?

Os artigos utilizados foram pesquisados nas seguintes bases de dados eletrônicas: Scientific

Electronic Library Online (SciELO), Literatura Latino-Americana e do Caribe de Ciências da Saúde (Lilacs) e PubMed.

Inicialmente foram selecionados nas bases de dados, 42 documentos compostos de artigos fruto de estudos randomizado, de coorte, prospectivo, retrospectivos entre outros métodos de pesquisa, teses e dissertações.

A pesquisa de artigos foi realizada de março a agosto de 2022 utilizando operadores booleanos (and/ e, e or /ou) para o refinamento da pesquisa utilizando as seguintes palavras-chaves usadas isoladas e/ ou em cruzamentos: “Lesão do joelho” (Knee injury) “Ruptura do ligamento cruzado” (Rupture of the cruciate ligament), “Engenharia de tecidos” (tissue engineering).

A pesquisa compreende os resultados de revisões bibliográficas referentes aos anos de 2010 a 2021. A busca de documentos científicos foi realizada em bases eletrônicas. Os critérios de inclusão dos documentos no estudo foram: artigos publicados na íntegra indexados e disponíveis nas bases nos idiomas português, inglês e espanhol. Os critérios de exclusão adotados foram: artigos não publicados na íntegra e que não estão indexados e indisponíveis nas bases dos idiomas português, inglês e espanhol e artigos no prelo.

## RESULTADOS

### Atuais opções de tratamento e reparação ligamento cruzado anterior

As lesões do LCA apresentam problemas clínicos únicos devido à sua baixa capacidade de cicatrização biológica relacionado às condições

intra-articulares locais. A ação do líquido sinovial e o movimento intra-articular impedem a formação de um *scaffolds* sustentável de fibrina-plaquetas<sup>8</sup>. Sem este suporte, nenhuma cicatrização primária pode ocorrer<sup>6</sup>.

Os tipos de tratamento direcionado a lesão do LCA são conservadores ou cirúrgicos. O tratamento conservador é reservado para pacientes que não apresentam altos níveis de atividade física, sedentário, sem os hábitos de prática esportiva, idosos e pessoas que consigam lidar com a instabilidade articular sem alteração significativa da qualidade de vida. Esta opção não é satisfatória para os casos de lesões em indivíduos jovens e atletas<sup>2</sup>.

As opções de tratamento cirúrgico para substituição do ligamento lesionado incluem aloenxertos ou auto enxertos, sendo que o auto enxerto osso-tendão-osso, recolhidos na rótula, os autoenxertos isquiotibiais e ou tendão quadricipital são os mais utilizados para a reconstrução do LCA<sup>2</sup>.

As desvantagens da reparação cirúrgica está relacionada no autoenxerto com problemas no local doador como a morbilidade do local dador, fraqueza do mecanismo quadricipital ou da flexão do joelho, fratura da rótula, diferentes tamanhos do enxerto, longos tempos cirúrgicos com consequente atraso no retorno a atividade física e redução do movimento<sup>2,9</sup>.

Pode se utilizar os aloenxertos que apresentam bons resultados, pois permitem um menor tempo cirúrgico, eliminam a morbilidade do local dador e têm tamanhos de enxerto mais consistentes<sup>2</sup>.

No entanto, os principais problemas com os aloenxertos é o aumento do risco de infecção,

transmissão de doenças, possibilidade de resposta imunogênica induzida no hospedeiro, enfraquecimento do tecido pelo processo de esterilização, aumento dos custos e tempos de incorporação, e menor estabilidade e força<sup>9</sup>.

E ainda de 30% a 80% dos pacientes que realizam procedimento cirúrgico desenvolvem osteoartrite dentro de 10 a 15 anos após a lesão. Essas taxas são semelhantes às do tratamento conservador não cirúrgico<sup>5</sup>.

Houve ainda avanços para manter a estabilidade mecânica do tendão no tratamento cirúrgico de LCA com introdução de duas novas técnicas.

Uma técnica é a *Internal brace ligament augmentation* (IBLA), que aumenta o ligamento com cinta interna (IBLA) que usa uma fita de polietileno de 2,5 mm para unir as fixações anatômicas das posições do feixe médio do LCA no fêmur e na tíbia<sup>6</sup>.

A outra técnica é a Estabilização Intraligamentar Dinâmica (DIS) que compartilha o conceito de tentar fornecer um ambiente mecânico protetor adequado para auxiliar na cicatrização ligamentar. O procedimento compreende o uso de uma luva rosqueada que contém uma mola pré-carregada e um mecanismo para prender a mola na tíbia. Um fio trançado de polietileno (PE) de 1,8 mm, preso ao componente tibial, atravessa a articulação do joelho, passando pelo meio do LCA rompido. Ele sai pela face lateral do fêmur distal, onde é fixado com um botão. O implante, uma vez inserido e tensionado, aplica uma força de gaveta posterior constante à tíbia proximal. O mecanismo embutido, ao permitir uma excursão dinâmica de 8 mm, garante que haja uma tensão

continua da corda em toda a amplitude de movimento<sup>6</sup>.

### **Engenharia Tecidual: Reparação Ligamentar Bio Potencializada**

Os avanços na área de engenharia de tecido disponibilizam um leque de opções em materiais tanto sintético quanto naturais que podem ser empregados no contexto da reconstrução do LCA e combinados entre si. Dentre os materiais sintéticos incluem fibras de carbono, politetrafluoretileno (PTFE), poliéster, polipropileno (PP), ácido poliglicólico (PGA), polidioxanona (PDO) e poli l-enxertos de ácido láctico (PLLA)<sup>10</sup>.

Vários materiais naturais têm sido usados para estimular o reparo do LCA, o colágeno, fibrina, matriz extracelular, alginato, quitosana, ácido hialurônico (HA) e seda<sup>10-14</sup>.

Muito destes materiais citados já são aplicados, porém continuam em constante estudo pois o intuito é aprimorar uso melhorar e expandir as possibilidades.

Os quatro princípios da engenharia de tecidos (células, fatores de crescimento, *scaffolds* e estímulos mecânicos) combinados em vários métodos de bioaugmentação têm sido cada vez mais explorados em um esforço para melhorar os resultados após o tratamento cirúrgico das lesões do ligamento cruzado anterior<sup>15</sup>.

### **Plasma Rico em Plaquetas (PRP)**

As recentes pesquisas com a terapia à base de fibrina como a cola de fibrina, PRP e outros produtos sanguíneos são cada vez mais exploradas para complementar as técnicas

atuais de reparo do LCA<sup>10</sup>.

O PRP é um plasma sanguíneo com alta concentração de plaquetas obtido pela remoção das hemácias por centrifugação do sangue total<sup>16</sup>.

Apesar das abordagens atuais baseadas em fibrina serem promissoras, a intervenção cirúrgica ainda é necessária para a sua administração<sup>10</sup>.

O tratamento não cirúrgico, como via injetável, pode ser uma opção clínica em casos de rupturas parciais, para estimular a cicatrização, evitando assim a necessidade de cirurgias caras e complicações pós-operatórias, mantendo o tecido original do LCA<sup>10</sup>.

As injeções intra-articulares no joelho são rotineiramente realizadas no contexto do tratamento da dor da osteoartrose. Apesar dos materiais à base de fibrina terem a facilidade de utilização por ser facilmente injetados. Muitos materiais à base de fibrina, incluindo o PRP, sofrem rápida degradação devido ao ambiente sinovial hostil, o que explica a falta de dados consistentes na literatura e a subsequente falta de uso clínico generalizado<sup>10, 11, 14</sup>.

Recentemente tem se desenvolvido materiais que aumentam a estabilidade da fibrina e simulam o processo natural de coagulação, como as plaquetas sintéticas, que pode ser vantajosa em relação a outras abordagens, como a coagulação biológica (PRP), pois atua na formação e estabilização do coágulo<sup>10</sup>.

A evolução das pesquisas levou ao uso dos *scaffolds* à base de colágeno que apresentam maior resistência à degradação do líquido sinovial do que os *scaffolds* à base de fibrina e que as concentrações fisiológicas de plaquetas apresentam uma funcionalidade superior neste

sistema em comparação com o PRP<sup>17</sup>.

Para a combinação de *scaffolds* à base de colágeno com PRP para reparar o LCA se desenvolveu uma técnica onde se realiza vários orifícios no fêmur e na tíbia, em seguida se faz suturas absorvíveis na extremidade tibial do LCA rompido e no túnel do fêmur. Sutures não absorvíveis são realizadas através do *scaffold* e nos túneis da tíbia e do fêmur fornecendo estabilização do joelho durante a cicatrização. O *scaffold* é embebido em PRP antes da colocação no local da lesão do LCA<sup>17</sup>.

Nesta mesma linha de pesquisas o uso de colágenos modificados usados como *bio-scaffold* com a adição de plaquetas, PRP injetados à estrutura de colágeno propicia um melhor aproveitamento do PRP. Por sua vez o colágeno aumenta os efeitos do PRP, ao desencadear uma liberação sustentada de citocinas anabólicas, como PDGF, TGF e VEGF, que podem ser um fator contribuinte adicional. O *bio-scaffold* de colágeno com PRP ou plaquetas pode ser um método adequado de bio reforço<sup>6</sup>.

O procedimento *Bridge-Enhanced ACL Repair* (BEAR) desenvolvido por Murray *et al.*<sup>8</sup> combina o reparo de sutura do ligamento com a implantação de um *scaffold* bioindutivo entre as duas extremidades rompidas do ligamento. O *scaffold* BEAR é feito de proteínas ECM, incluindo colágeno que interage com o sangue e resiste à degradação do líquido sinovial. O *scaffold* também é desvinculado e possui um teor de DNA relativamente baixo, o que pode levar a uma diminuição da resposta imunogênica à sua implantação. O sangue autólogo é adicionado ao suporte e é mantido

intra-articularmente no joelho, onde as células sanguíneas estimulam o processo de cicatrização do ligamento<sup>10</sup>.

### Bio-Scaffolds - Materiais e Arquitetura

Os *scaffolds* são um modelo tridimensional fornecem estabilidade mecânica para o crescimento de tecido regenerativo e moléculas biologicamente ativas, como fatores de crescimento, impulsionando o processo de diferenciação e maturação celular. Juntos, eles fizeram um tecido viável recém formado fora do corpo humano para ser aplicado em técnicas de substituição de tecidos<sup>16</sup>.

O *bio-scaffold* é um tecido funcional composto com várias características para mediar a fixação celular. Os biomateriais usados para construir o *bio-scaffold* devem ter características importantes como formação de tecido tridimensional que permite a adesão e migração celular, entrega de fatores bioquímicos e difusão de nutrientes celulares vitais e produtos expressos<sup>15</sup>.

Um *bio-scaffold* ideal deve possuir as seguintes características: tridimensionalidade e alta porosidade (rede de poros) interligados para crescimento celular, fluxo de transporte de nutrientes e resíduos metabólicos; biocompatibilidade, hidrofiliabilidade, molhabilidade, biodegradabilidade e biorreabsorção controlável para corresponder ao crescimento de células/tecidos *in vitro* e/ou *in vivo*; menor citotoxicidade e boa resistência mecânica; química de superfície adequada para fixação, proliferação e diferenciação celular; propriedades mecânicas para corresponder às dos tecidos no local de implantação<sup>15</sup>.



A biocompatibilidade do *scaffold* é importante para apoiar a atividade celular apropriada. O *scaffold* precisa ter alta porosidade com poros interconectados com tamanho de poro adequado para fornecer um ambiente físico ideal para a célula crescer e proliferar, distribuir uniformemente e apoiar a neovascularização. A bioestabilidade do *scaffold* depende de fatores como resistência mecânica, elasticidade e biodegradação. A correspondência das propriedades mecânicas de um *scaffold* com as da matriz extracelular (MEC) nativa é importante para garantir que o crescimento do tecido não seja limitado por falha mecânica do andaime<sup>16</sup>.

Estudos com o hialuronano tem demonstrado que este fornece fator de crescimento para a cicatrização do ligamento, aumenta o colágeno tipo III, a angiogênese e diminui a inflamação podendo ser empregado complementar o reparo primário do LCA. O hialuronano também pode ser associado aos *scaffold*<sup>6, 18, 19</sup>.

O controle da biodegradação do *scaffold* e a formação de nova matriz extracelular (MEC) é muito importante para evitar a perda de resistência mecânica e arquitetura do *scaffold*. Muitos biomateriais, incluindo colágeno, seda, alginato, quitosana, policaprolactona, ácido poliglicólico e ácido polilático, foram fabricados em *scaffold* para engenharia de tecidos de tendões/ligamentos usando técnicas como eletrofiação, alinhamento eletroquímico, tricô e liofilização. O maior problema com o tendão/ligamento de engenharia de tecido atual é que ele mostrou resultados promissores a curto prazo, mas falhou ao longo do tempo<sup>16</sup>.

A técnica de eletrofiação, consiste em

produzir nanofibras finas que variam de 15 nm a 10 µm ou mais. O método de produção consiste no uso de solução de polímero em uma seringa com agulha. A solução de polímero é ejetada da seringa através da agulha percorrendo a distância e sendo depositado no coletor. Este processo submete o polímero a um forte campo elétrico formando fibras ultrafinas via estiramento pela força elétrica. A fibra é coletada em um coletor rotativo para produzir nanofibras altamente alinhadas. Vários estudos fabricaram com sucesso nanofibras de alinhamento usando o método de eletrofiação<sup>16</sup>.

Os ligamentos produzidos pela engenharia de tecido exigem um material de matriz extracelular biocompatível e biodegradável onde as células são plantadas no *scaffold*, e gradualmente crescem e secretam a matriz extracelular, e finalmente geram uma estrutura espacial tridimensional que simula ligamentos tanto na estrutura quanto na composição.

É um desafio, substituir os LCA danificados por ligamentos artificiais porquê os suportes ligamentares devem ter uma estrutura multirregional que possa orientar a diferenciação das células-tronco<sup>9</sup>.

Um estudo projetou *bio-scaffolds* bifásico com uma estrutura de colágeno densa e utilizou uma nova estratégia de eletrofiação de fase dupla em que os *bio-scaffolds* compreendiam fases aleatoriamente dispostas nas duas extremidades e uma fase alinhada no meio. As propriedades morfológicas, mecânicas e degradação do *bio-scaffold* foram investigadas<sup>9</sup>. A proliferação, adesão, morfologia e marcadores de fibroblastos de Células-tronco mesenquimais de medula humana (MSCs) foram avaliados em cultura

dinâmica. Os *scaffold* foram testados se induziriam a formação de ligamentos usando um modelo de roedor *in vivo*. Os resultados demonstraram que os *bio-scaffolds* eletrofiados bifásicos apresentaram propriedades mecânicas e degradabilidade semelhantes às dos LCA. Os animais apresentaram um bom tecido ligamentar regenerado e apoio a estabilidade articular<sup>20</sup>.

A criação de bio reforço de reparos do LCA combinando de PRP/ células-tronco mesenquimais/*bio-scaffold* para reparo primário do ligamento intra-articular é o caminho. Para tanto há inúmeros biomateriais de *scaffolds* que podem ser utilizados em tendões e ligamentos<sup>6</sup> conforme descrito na Tabela 1.

**Tabela 1:** Biomateriais de *scaffolds* utilizados na engenharia de tecidos de tendões/ligamentos.

Origem	Biomateriais	Vantagens
Naturais	Colágeno	Taxa de degradação lenta, Componente principal do ECM, Resistência mecânica razoável
	Seda	Boa resistência mecânica Taxa de degradação lenta
	Alginato	Propriedades biocompatíveis e hidrofílicas ajudaram a sustentar e controlar a entrega de fatores biológicos
Sintéticos	PCL	Mais fácil de processar
	PLGA	Produção em massa com baixo custo
	PLLA	Alta resistência mecânica
Sintético/natural	PCL/CHT	Combinação das melhores propriedades de polímeros naturais e sintéticos
	PLCL/Colágeno	-
	PCL/CHT/HA	-
	PLLA/CHT-colágeno/alginato	-

Legenda: PCL (policaprolactona); PLGA poli (ácido láctico-co-glicólico); CHT (quitosana); PLCL poli (l-lactídeo-co-ε-caprolactona); PLLA poli (l-ácido láctico); HA (hidroxiapatita).

Fonte: Modificado de Lim et al.<sup>14</sup>

A engenharia de tecidos já desenvolveu substitutos de tendão/ligamento de engenharia de tecidos com propriedades mecânicas sendo eles: PLCL poli (L-lactídeo-co-ε-caprolactona)/colágeno; Trançado de PLA

(ácido polilático); PLA (ácido polilático)-poloxamer; PLA(ácido polilático)-poloxamina; PCL (policaprolactona)/gelatina; PLA (ácido polilático)/colágeno; PLLA (poli -L-ácido láctico) /CHT (quitosana)-hidrogel de colágeno;



PCL (policaprolactona)–HA (hidroxiapatita)/CHT (quitosana); PU (poliuretano)/colágeno/seda, PLA ácido polilático, PCL policaprolactona, PLCL poli(L-lactídeo-co-ε-caprolactona), CHT quitosana, HA hidroxiapatita, PLLA poli -L-ácido láctico e o PU poliuretano<sup>16</sup>.

### Células Tronco

Tanto as células diferenciadas quanto as células tronco indiferenciadas podem ser usadas na engenharia de tecidos. A maioria dos estudos utiliza células-tronco auto renováveis e se diferenciam em vários tipos de células, ao mesmo tempo em que apresentam baixa imunogenicidade após o transplante. Vários estudos envolveram o uso de diferentes tipos de células tronco, incluindo células tronco embrionárias, fetais e adultas de várias fontes no reparo de tendões/ligamentos com resultados promissores<sup>16</sup>.

A maioria dos estudos utilizou um único tipo de células. No entanto, a co-cultura pode ser o caminho a seguir, pois descobriu-se que aumenta os marcadores tenogênicos, daí a formação de tecido semelhante ao tendão<sup>16</sup>.

Alguns tipos de células têm mostrado grande potencial na engenharia de tecidos de tendões e ligamentos, como as células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs), células-tronco embrionárias (ESCs), MSCs, tenócitos e ligamentócitos. As células-tronco pluripotentes, compostas por células-tronco embrionárias (ESCs) e células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs), são células-tronco que têm capacidade proliferativa ilimitada e capacidade de se diferenciar em qualquer tipo de célula<sup>12</sup>.

Como ESCs e iPSCs são pluripotentes e possuem grande capacidade proliferativa, há um risco aumentado de formação de teratoma após a administração. As MSCs são células-tronco multipotentes com melhor capacidade de autorrenovação e diferenciação multilinhagem em comparação com células terminalmente diferenciadas, como tenócitos e ligamentócitos. As MSCs podem ser derivadas da medula óssea, cordão umbilical, tecido adiposo, tecido amniótico e até mesmo do próprio tecido tendinoso comparadas às ESCs, as (MSCs) não aumentam o risco de desenvolver teratoma e são mais fáceis de obter sem preocupação ética. No entanto, MSCs devem ser usadas com cautela, pois as células foram relatadas como influenciando o desenvolvimento do tumor e a resistência aos medicamentos contra o câncer<sup>16</sup>.

Atualmente os estudos se concentram no uso das células-tronco mesenquimais (CTM) originária da LCA, do ligamento intra-articular, e do ligamento colateral medial (LCM), como ligamento extra-articular que apresentam características diferenciadas<sup>16</sup>. As CTMs adicionadas aos *scaffolds* naturais ou biodegradáveis ou enxertos de reconstrução do LCA promovem a produção de colágeno tipo I e tipo III dentro do ligamento<sup>6</sup>.

As células-tronco pluripotentes induzidas pelo homem (hiPSCs) são células somáticas reprogramada e também estão em linha de pesquisa<sup>16</sup>.

As HiPSCs são semelhantes às células-tronco embrionárias humanas (hESC), são capazes de auto renovação e diferenciação para vários tipos de células derivadas de todas as três camadas germinativas embrionárias, tornando-as uma

fonte celular ideal<sup>21</sup>. Como o ligamento e o tendão têm capacidade de regeneração limitada, um protocolo que possibilite a regeneração celular dos ligamentos e tendões é uma opção o reparo nos casos de lesão do LCA<sup>21</sup>. Os pesquisadores Woods et al.<sup>21</sup> realizaram o primeiro estudo onde, por meio de dois protocolos distintos, geraram com sucesso células iPSCs a partir de células humanas do ligamento cruzado anterior (LCA) com condições otimizadas de reprogramar o ligamento lesionado, sendo o primeiro estudo a gerar com sucesso hiPSCs de qualquer ligamento verdadeiro<sup>21</sup>.

### **Biorreator e carregamento mecânico para melhorar a maturação do substituto tendão/ligamento *in vitro***

O tendão/ligamento de engenharia de tecido pode ser cultivado tridimensionalmente dentro de um biorreator em ambiente controlado, ao mesmo tempo em que recebe estímulo mecânico e sinal químico para orientar a maturação do tecido. A seleção cuidadosa dos biomateriais como agente de *scaffolds* é importante, pois alguns biomateriais podem não ser capazes de suportar a carga mecânica devido às propriedades mecânicas ruins. O biorreator promove uma estimulação mecânica possibilita a regulação fisiológica de tendões e ligamentos engenheirados, com o objetivo de estimular sua maturação *in vitro*<sup>16</sup>.

## **CONCLUSÃO**

As pesquisas na área de engenharia de tecidos para o ligamento cruzado anterior

destacam-se os *scaffolds* pela sua versatilidade e capacidade de combinar inúmeros materiais diferentes. As células-tronco pluripotentes HiPSCs e células-tronco mesenquimais (CTM) originária da LCA, a técnica de eletrofiação e o procedimento *Bridge-Enhanced ACL Repair* (BEAR). São técnicas que já apresentam resultados promissores no tratamento das lesões de LCA e num futuro próximo podem substituir as cirurgias em vários casos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Kohn L, Rembeck E, Rauch A. [Anterior cruciate ligament injury in adults : Diagnostics and treatment. Orthopade. 2020;49(11):1013-28.
2. Monteiro JC. Tratamento das falhas do LCA em atletas: Futura aplicação da engenharia de tecidos? Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto. 2017:20p.
3. Filbay SR, Grindem H. Evidence-based recommendations for the management of anterior cruciate ligament (ACL) rupture. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2019;33(1):33-47.
4. Stieven Filho E, Namba MS, Nascimento IdP, Rosa FM, Namba MM. Tendão quadrícipital: Opção na reconstrução ligamentar do joelho. Revista Brasileira Ortopedia [Internet]. 2022 [cited 2022 set 20]; 57(0102–3616): Available from: [www.thieme-connect.com](http://www.thieme-connect.com).
5. Lai CC, Ardern CL, Felle, JA, Webster, KE. Oitenta e três por cento dos atletas de elite retornam ao esporte pré-lesão após a reconstrução do ligamento cruzado anterior: uma revisão sistemática com meta-análise das taxas de retorno ao esporte, taxas de ruptura do enxerto e resultados de desempenho. British Journal of Sports Medicine 2018;pág.128-38.
6. Mahapatra P, Horriat S, Anand BS. Anterior cruciate ligament repair—past, present and future. Journal of experimental orthopaedics. 2018;5(1):1-10.

- 7.MHH C, CP G, WC O, PS L, CN W, MY L, et al. Evaluation of a care transition program with pharmacist-provided home-based medication review for elderly Singaporeans at high risk of readmissions. *England*2017 2017-4-1. 200-5 p.
- 8.Murray MM, Magarian E, Zurakowski D, Fleming BC. Bone-to-bone fixation enhances functional healing of the porcine anterior cruciate ligament using a collagen-platelet composite. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 2010;26(9):S49-S57.
- 9.Tang Y, Tian J, Li L, Huang L, Shen Q, Guo S, et al. Biomimetic Biphasic Electrospun Scaffold for Anterior Cruciate Ligament Tissue Engineering. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2021;18(5):819-30.
- 10.Scully G, Fisher MB, Brown AC. Fibrin-based biomaterial systems to enhance anterior cruciate ligament healing. *Medical devices & sensors*. 2021;4(1):e10147.
- 11.Tennent GA, Brennan SO, Stangou AJ, O'Grady J, Hawkins PN, Pepys MB. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver. *Blood*. 2007;109(5):1971-4.
- 12.Altman GH, Horan RL, Lu HH, Moreau J, Martin I, Richmond JC, et al. Silk matrix for tissue engineered anterior cruciate ligaments. *Biomaterials*. 2002;23(20):4131-41.
- 13.Brunger JM. *Cellular and Biomaterial Engineering for Orthopaedic Regenerative Medicine* 2015.
- 14.Lana JF, Macedo A, Ingraio ILG, Huber SC, Santos GS, Santana MHA. Leukocyte-rich PRP for knee osteoarthritis: Current concepts. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. 2019;10:S179-S82.
- 15.Looney AM, Leider JD, Horn AR, Bodendorfer BM. Bioaugmentation in the surgical treatment of anterior cruciate ligament injuries: a review of current concepts and emerging techniques. *SAGE Open Medicine*. 2020;8:2050312120921057.
- 16.Lim WL, Liao LL, Ng MH, Chowdhury SR, Law JX. Current progress in tendon and ligament tissue engineering. *Tissue engineering and regenerative medicine*. 2019;16(6):549-71.
- 17.Perrone GS, Proffen BL, Kiapour AM, Sieker JT, Fleming BC, Murray MM. Bench-to-bedside: bridge-enhanced anterior cruciate ligament repair. *Journal of Orthopaedic Research*. 2017;35(12):2606-12.
- 18.Agarwal G, Agiwal S, Srivastava A. Hyaluronic acid containing scaffolds ameliorate stem cell function for tissue repair and regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;165:388-401.
- 19.Li H, Chen C, Zhang S, Jiang J, Tao H, Xu J, et al. The use of layer by layer self-assembled coatings of hyaluronic acid and cationized gelatin to improve the biocompatibility of poly (ethylene terephthalate) artificial ligaments for reconstruction of the anterior cruciate ligament. *Acta Biomaterialia*. 2012;8(11):4007-19.
- 20.Tang Y, Tian J, Li L, Huang L, Shen Q, Guo S, et al. Biomimetic Biphasic Electrospun Scaffold for Anterior Cruciate Ligament Tissue Engineering. *Tissue Eng Regen Med*. 2021;18(5):819-30.
- 21.Woods S, Bates N, Dunn SL, Serracino-Inglott F, Hardingham TE, Kimber SJ. Generation of Human-Induced Pluripotent Stem Cells From Anterior Cruciate Ligament. *J Orthop Res*. 2020;38(1):92-104.