



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Utilização de células-tronco mesenquimais e biomateriais na regeneração da laringe
Autor	DANIELA BURGUÊZ
Orientador	PATRICIA HELENA LUCAS PRANKE

Utilização de células-tronco mesenquimais e biomateriais na regeneração da laringe

Aluna: Daniela Burguêz ¹, Orientadora: Profa. Dra. Patricia Pranke ^{1,2,3,4}

¹Laboratório de Hematologia e Células-Tronco, Faculdade de Farmácia; ²Instituto de Ciências Básicas da Saúde; ³Programa de pós-graduação em fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande Sul; ⁴Instituto de Pesquisa com Células-tronco, Porto Alegre, RS. Brasil.

A engenharia de tecidos envolve o uso de biomateriais que oferecem suporte às células, mimetizando o ambiente extracelular com o objetivo de auxiliar na regeneração do tecido. O presente estudo combinou o uso de matrizes produzidas por prototipagem rápida (impressão 3D) e matrizes nanoestruturas para investigar a interação entre os biomateriais e as células-tronco mesenquimais (CTMs), aliando essas novas tecnologias para o desenvolvimento de um substituto de cartilagem de laringe. As CTMs foram isoladas de cordão umbilical e caracterizadas pela morfologia, pela citometria de fluxo e por sua capacidade de diferenciação em osteoblastos, condroblastos e adipócitos. As matrizes 3D foram desenvolvidas com o polímero policaprolactona (PCL), por meio da fabricação aditiva, na impressora 3D Fab@CTI, pelo processo de extrusão de filamentos fundidos em parceria com o Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI), em Campinas/SP. As nanofibras foram produzidas por eletrofiação com o poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) dissolvido em 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP). As estruturas matrizes 3D + nanofibras foram esterilizadas sob luz ultravioleta. As células foram semeadas em três diferentes densidades, de cada lado do biomaterial híbrido, com 2 dias de diferença entre as semeaduras: 8.500; 25.500 ou 51.000 CTMs. No final, cultivou-se 17.000, 51.000 ou 102.000 células, respectivamente. Os testes foram realizados após 48h da 2ª semeadura. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico que utiliza o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). A citotoxicidade celular foi avaliada por meio da dosagem da enzima lactato desidrogenase (LDH). A adesão celular foi analisada através da coloração histoquímica com DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), bem como por faloidina. A avaliação da morfologia e do diâmetro das fibras produzidas por eletrofiação foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise estatística foi realizada via ANOVA, seguida do teste de post-hoc de Bonferroni, utilizando o programa estatístico BioEstat 5.0. As células apresentaram morfologia típica de CTMs, com aderência ao plástico, apresentando positividade para os marcadores de superfície CD73/PE, CD90/FITC, CD105/APC e negatividade para CD14/FITC, CD34/PE, CD45/FITC e HLA-DR/FITC. As células foram capazes de se diferenciar nas três linhagens mesodérmicas analisadas. As nanofibras mostraram diâmetro de 645 ± 26 nm, sem presença de *beads*. Os resultados mostraram que não foram observadas diferenças estatísticas significativas na viabilidade celular entre as matrizes e o poço controle nas mesmas concentrações de CTMs. O teste de LDH mostrou que os suportes não foram citotóxicos, com equivalência estatística ao poço controle negativo. Por meio da microscopia de fluorescência a laser, foi possível observar células em ambos os lados das superfícies dos suportes. Pela MEV, foi possível observar que as nanofibras integraram-se aos moldes 3D, com adequada aderência das células aos biomateriais. As nanofibras combinadas com as matrizes 3D garantiram estabilidade mecânica aos suportes produzidos. As CTMs possuem interessantes características para uso na medicina regenerativa como a alta capacidade de proliferação e diferenciação celular, bem como a liberação de fatores de crescimento, que auxiliam na regeneração tecidual. A continuidade do estudo objetiva a regeneração da cartilagem da laringe de porcos lesados cirurgicamente, com a utilização de células-tronco cultivadas nas matrizes híbridas produzidas.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERGS, PROPESQ-UFRGS e Instituto de Pesquisa com células-tronco.