

DESENVOLVIMENTO DE MATRIZ EXTRACELULAR TEMPORÁRIA PARA GÊNESE DE MUCOSA UROTELIAL

Bruno Ismail Splitt¹, Joelson Tomedi³, Annelise Ribeiro da Rosa², Marcel Machado Valério¹, Patricia Helena Lucas Pranke³, Nadya Pesce da Silveira³, Ilma Simoni Brum da Silva³, Brasil Silva Neto³, Milton Berger³.

¹ Acadêmico de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Pós-Graduando da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

³ Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução

A lesão de órgãos do sistema urinário é um problema médico de grande relevância. Nas últimas décadas, o surgimento da engenharia de tecidos permitiu a criação de novos tecidos *in vitro*, que podem ser usados como substitutos para os tecidos naturais danificados. O processo de gênese de um tecido *in vitro* pode ser resumido em três etapas: produção de uma matriz temporária, cultura celular e integração entre ambas.

Objetivos

Desenvolver um processo que permita a gênese de uma mucosa urotelial *in vitro*. Isolar e cultivar células mesenquimais e epiteliais de segmentos do sistema urinário humano. Avaliar a integração entre cada tipo celular e as matrizes.

Materiais e Métodos

Foram produzidos quatro tipos diferentes de matrizes temporárias com combinações de gelatina, ácido hialurônico e heparina. Células uroteliais e células-tronco derivadas do tecido adiposo (ADSC) foram obtidas de segmentos de ureteres descartados após nefrectomias. Elas foram expandidas em cultura e, posteriormente, semeadas nas matrizes temporárias. Avaliou-se a integração entre cada tipo celular e as matrizes temporárias através de cortes histológicos. Adicionalmente, a expressão de citoqueratina 7 pelas células uroteliais foi analisada pela técnica de Western blotting.

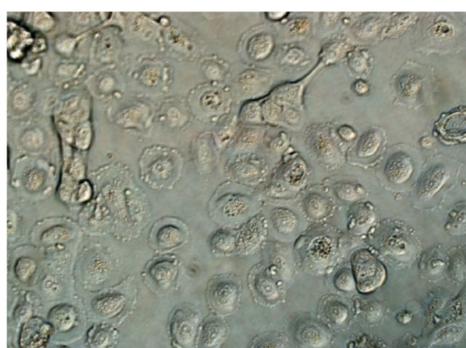


Figura 1. Fotomicrografia da cultura de células uroteliais (magnificação 200x).

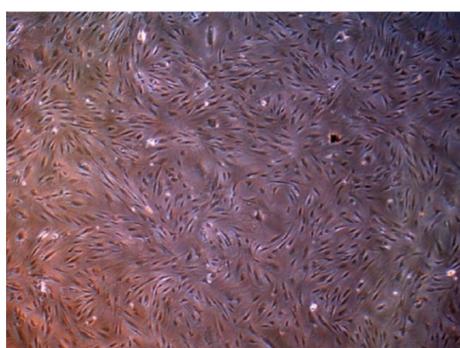


Figura 2. Fotomicrografia da cultura de ADSCs (magnificação 40x).

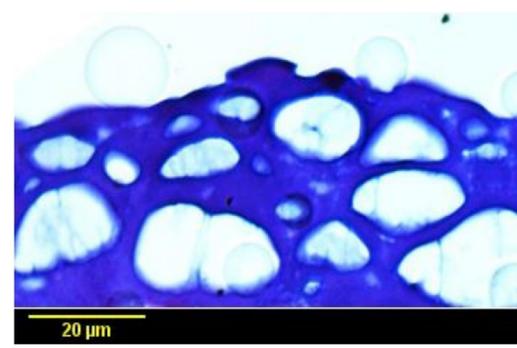


Figura 3. Fotomicrografia de um corte transversal de uma matriz H0 (microscopia óptica, coloração hematoxilina-eosina, barra: 20 µm).

TIPOS DE MATRIZES CONFECCIONADAS:

(A0): gelatina - ácido hialurônico. (H0) gelatina - heparina. (AH): gelatina - ácido hialurônico com a superfície revestida de gelatina - heparina. (HA): gelatina - heparina com a superfície revestida de gelatina - ácido hialurônico.

Resultados

Das seis culturas primárias de células uroteliais realizadas, duas atingiram confluência e foram semeadas nas matrizes temporárias. Ambos os tipos celulares foram capazes de aderir e proliferar sobre todas as matrizes temporárias testadas. Identificou-se a expressão de citoqueratina 7 nos quatro grupos de matrizes cultivadas com células uroteliais.

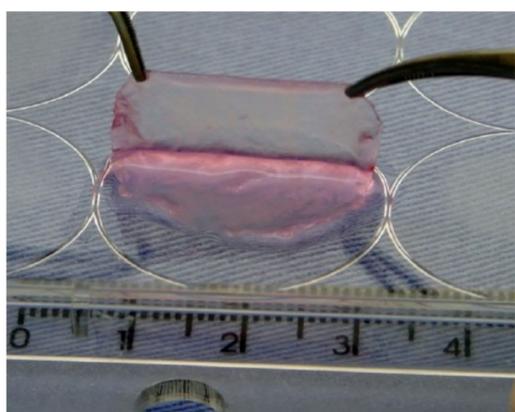
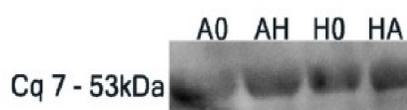


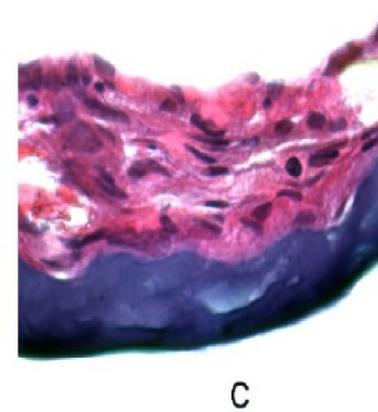
Figura 4. Registro fotográfico da matriz H0 após a cultura com ADSCs.



A



B



C

Figura 5. Interações entre células e matrizes. (A) Corte histológico demonstrando células uroteliais aderidas a uma matriz (magnificação 1000x). (B) Bandas indicando a presença de citoqueratina 7. (C) Corte histológico demonstrando a formação de camadas de células mesenquimais (400x).

Conclusão

Foi possível transpor as principais etapas para a formação de uma mucosa urotelial *in vitro*, havendo proliferação celular nos quatro grupos de matrizes. Buscamos ainda identificar a melhor matriz em termos de características físico-químicas, espessura, porosidade, manuseio, e demais propriedades.