

SCAFFOLDS DE PCL PRODUZIDOS POR PROTOTIPAGEM RÁPIDA PARA USO NA ENGENHARIA DE TECIDOS

Bruna Thereza da Silva Santi ¹, Patricia Pranke ²

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul;

² Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT); Porto Alegre, RS, Brasil

email: bruna_ssanti@yahoo.com.br



CS - Ciências da Saúde

INTRODUÇÃO

A perda ou o dano a um órgão ou tecido representa um problema freqüente na área da saúde, gerando grande necessidade de substituição ou reparo dos tecidos ou órgãos afetados. Dessa forma, a engenharia de tecidos pode representar uma alternativa para regenerar o tecido danificado através da associação de células-tronco (CTs) e de biomateriais.

A técnica de prototipagem rápida para a produção de *scaffolds*, constituídos de polímeros, oferece a possibilidade de controlar rigorosamente a estrutura do biomaterial, proporcionando um suporte tridimensional (3D) para o crescimento de células, a fim de gerar uma matriz extracelular que permite o transporte de massa, de oxigênio e de nutrientes, essenciais para o desenvolvimento celular. O polímero utilizado poli(ε-caprolactona) (PCL) tem como propriedade a lenta degradação, aproximadamente de 2 a 3 anos, sendo interessante para uso em tecidos de regeneração lenta como, por exemplo, o tecido ósseo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os biomateriais foram desenvolvidos pelo Centro de Tecnologia da Informação (CTI) Renato Archer, Divisão de Tecnologias 3D, Campinas, SP, Brasil. Com o objetivo de avaliar a resposta celular aos *scaffolds* produzidos, os mesmos foram fabricados em uma impressora 3D utilizando o polímero PCL, através do arranjo de 5 camadas de polímero com cerca de 0,6 mm de diâmetro. Os *scaffolds* foram produzidos com diferentes *air gaps*, ou seja, espaços entre as fibras das matrizes, como segue: Grupo 1) 0,10 mm; Grupo 2) 0,15 mm; Grupo 3) 0,20 mm; Grupo 4) 0,30 mm e Grupo 5) 0,40 mm. A morfologia dos *scaffolds* foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para os ensaios biológicos, os *scaffolds* foram colocados em placas de cultura de 96 poços e 5.000 células-tronco mesenquimais (CTMs), provenientes da polpa de dentes decíduos humanos foram semeadas sobre eles. A análise consistiu em teste de viabilidade, realizado com o reagente WST-8 (Sigma-Aldrich®) através da medida da absorbância. A medida da absorbância foi realizada nas células cultivadas nos biomateriais, em todos os grupos. Nos grupos 2, 3 e 5, nos dias 4 e 7, a análise foi também realizada diretamente nas células restantes nos poços de cultivo, após a retirada do biomaterial com as células aderidas. Também foi realizada microscopia confocal, usando o corante 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para a marcação do núcleo celular e faloidina, para o citoplasma, bem como MEV, para avaliar a morfologia das células. Todos os ensaios biológicos foram realizados após 1, 4, 7, 15 e 21 dias do processo de semeadura das células. Um grupo controle, que consistiu de células cultivadas diretamente no poço de cultura, também foi incluído.

RESULTADOS

A análise da morfologia dos *scaffolds* por MEV mostrou fibras bem formadas, com poros interligados. (Figura1).

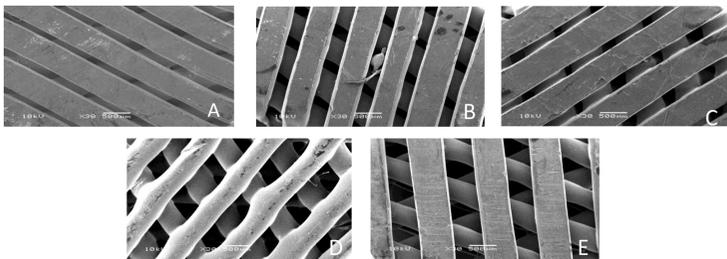


Figura 1. Morfologia dos *scaffolds* por MEV. A) Grupo 1, B) Grupo 2, C) Grupo 3, D) Grupo 4 e E) Grupo 5.

O ensaio de viabilidade mostrou que todos os grupos tiveram o mesmo comportamento, com um pequeno aumento do número de células viáveis, com o passar dos dias de análise, representado pelo aumento da absorbância. Não houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,550$ para todas as comparações) (Figura 2).

CONCLUSÃO

O biomaterial funcionou principalmente como um ambiente 2D, uma vez que as células aderiram mais à superfície da fibra e interagiram pouco com a arquitetura das matrizes 3D. Além disso, embora o teste de viabilidade apresente baixo número de células viáveis nos *scaffolds*, foi possível visualizar as células interagindo com o biomaterial e entre elas. Dessa forma, mostraram-se adequados para o cultivo celular, assim como para uma futura utilização na engenharia de tecidos.

O grupo controle apresentou estatisticamente maior número de células viáveis ($p < 0,001$) do que os outros grupos (Figura 3). No entanto, pela análise de confocal foi possível observar células distribuídas sobre as fibras que formam as matrizes em todos os grupos, desde o primeiro dia de análise (Figura 4).

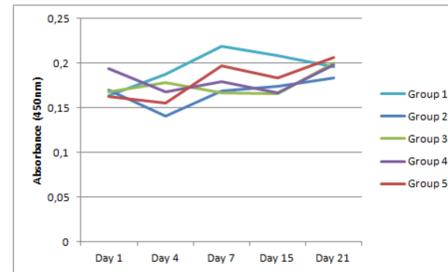


Figura 2: Viabilidade das CTMs nos diferentes grupos de *scaffolds*.

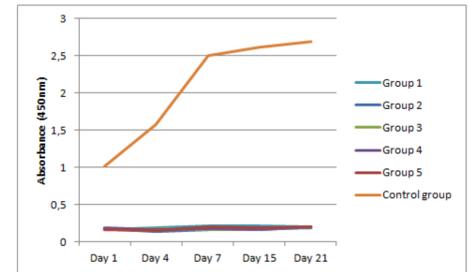


Figura 3: Viabilidade das CTMs nos diferentes grupos de *scaffolds* em comparação com o grupo controle.

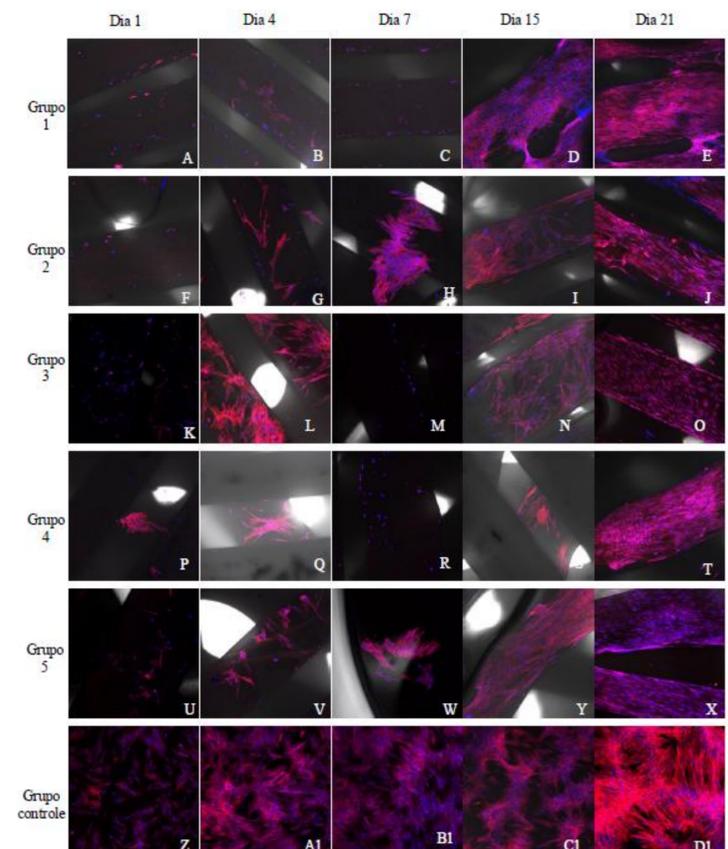


Figura 4: Marcação das células com DAPI e Faloidina. Dia 1 - A: Grupo 1; F: Grupo 2; K: Grupo 3; P: Grupo 4; U: Grupo 5; e, Z: Grupo controle. Dia 4 - B: Grupo 1; G: Grupo 2; L: Grupo 3; Q: Grupo 4; V: Grupo 5; e, A1: Grupo controle. Dia 7 - C: Grupo 1; H: Grupo 2; M: Grupo 3; R: Grupo 4; X: Grupo 5; e, B1: Grupo controle. Dia 15 - D: Grupo 1; I: Grupo 2; N: Grupo 3; S: Grupo 4; W: Grupo 5; e, C1: Grupo controle. Dia 21 - E: Grupo 1; J: Grupo 2; O: Grupo 3; T: Grupo 4; Y: Grupo 5; e, D1: Grupo 6..

A análise da viabilidade das células restantes nos poços de cultivo, após a retirada do biomaterial, mostrou absorbâncias elevadas, comparáveis com o grupo controle. Essa análise confirmou a suspeita de que as células passaram através dos poros das matrizes e aderiram diretamente à placa de cultura.

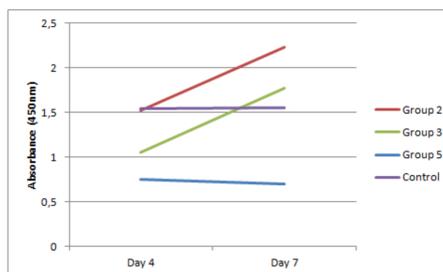


Figura 5: Viabilidade celular dos grupos 2, 3 e 5 avaliados 4 e 7 dias após a semeadura das CTMs sobre os *scaffolds*. A análise avaliou a absorbância das células presentes nos poços das placas de cultura em que os *scaffolds* foram removidos.

Apoio Financeiro



MODALIDADE DE BOLSA

PIBIC-CNPq - UFRGS

Agradecimentos:
Daniela Steffens, Rodrigo Alvarenga, Frederico David Alencar de Sena Pereira, Paulo Infoçatti Neto e Jorge Vicente Lopes da Silva.