

Desenvolvimento de um condúite de nanofibras de PLGA produzido por *electrospinning*, com o cultivo de células-tronco mesenquimais, a ser utilizado como enxerto artificial para o nervo periférico

Laura Gonçalves Pozzobon^{1,2}, Patricia Pranke^{1, 2, 3}

¹ Hematology and Stem Cell Laboratory, Faculty of Pharmacy, ² Stem Cell Laboratory, Fundamental Health Science Institute,; ³ Stem Cell Research Institute (Instituto de Pesquisa com Células-tronco); Porto Alegre, RS, Brazil
e-mail: patriciapranke@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

A lesão de nervo periférico é uma injúria que traz prejuízos às funções motoras e sensitivas, diminuindo a qualidade de vida e limitando movimentos. Atualmente, enxertos teciduais são uma opção eficaz de tratamento da lesão. Uma alternativa promissora aos enxertos convencionais são condúites fabricados através da técnica de *electrospinning* com polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, sendo utilizados como suporte para o cultivo de células.

MATERIAIS E MÉTODOS

A produção das fibras foi realizada pela técnica de *electrospinning*, utilizando-se um rotor como coletor para a fabricação de fibras alinhadas com o objetivo de induzir o crescimento axonal linear dentro do condúite. O condúite de nanofibras alinhadas foi desenvolvido utilizando-se uma concentração de 18% de poli L-ácido láctico-co-ácido glicólico (PLGA) com o solvente hexafluoro-2-propanol.

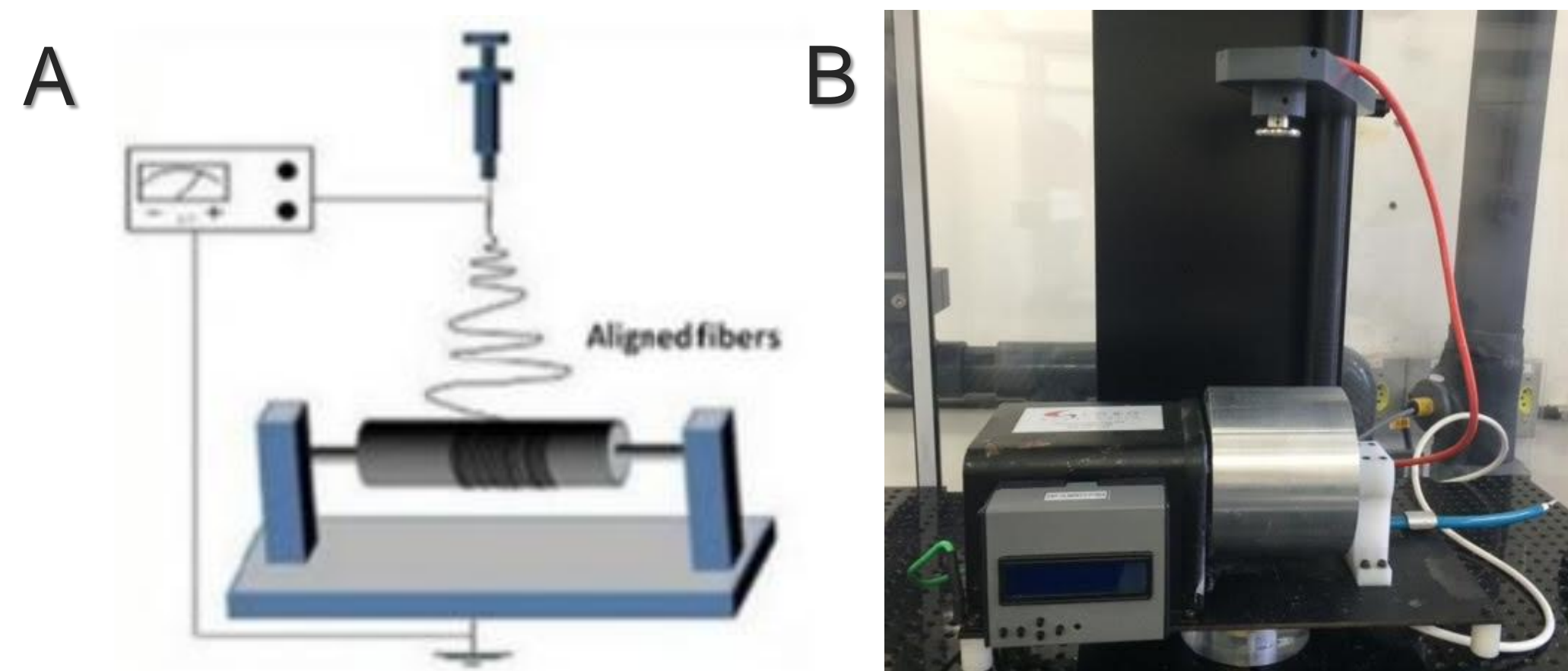


Fig. 1A: Esquema do equipamento de *electrospinning* acoplado ao rotor giratório.
Fig. 1B: Foto do equipamento utilizado para o desenvolvimento do condúite.

As propriedades deste condúite foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), medidas de ângulo de contato e análise mecânica (módulo de Young, alongação e carga máxima suportada). Utilizou-se células mesenquimais humanas, que foram mantidas em cultura por 7 dias até atingirem confluência adequada e então foram ressuspendidas e semeadas nos condúites em uma densidade de 5×10^5 . A viabilidade e proliferação celulares foram analisadas com os ensaios *Live/dead*, marcação com Faloidina e DAPI e WST8.

RESULTADOS

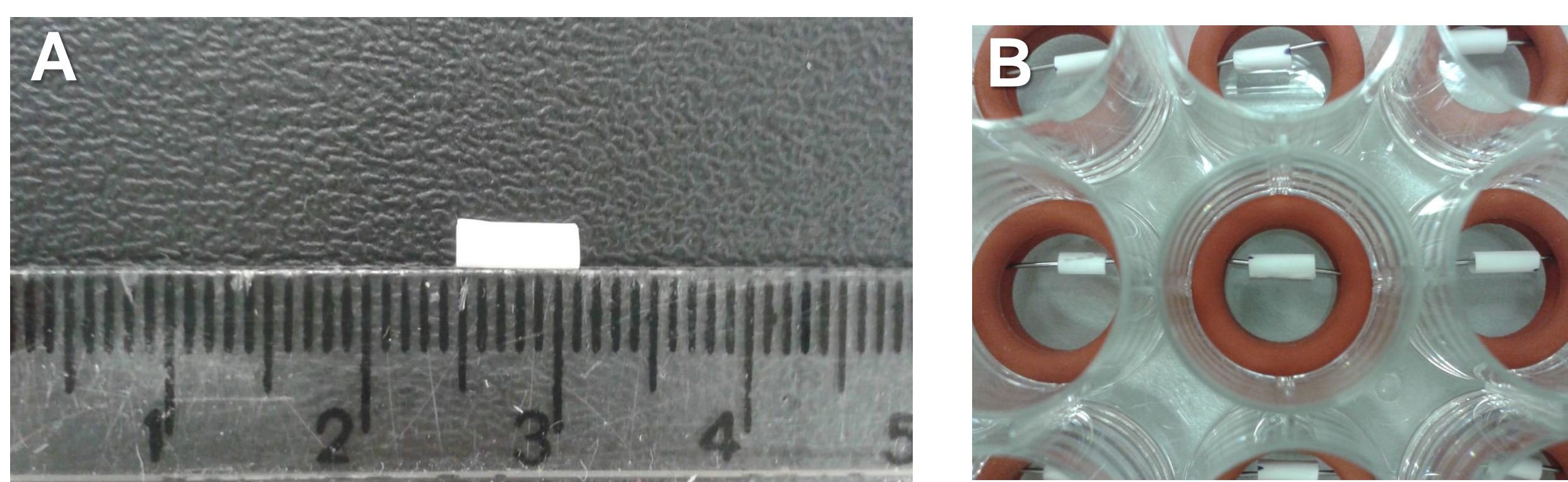


Fig. 2A: condúite. 2B: placa de 24 poços com condúites esterilizados e prontos para serem semeados.

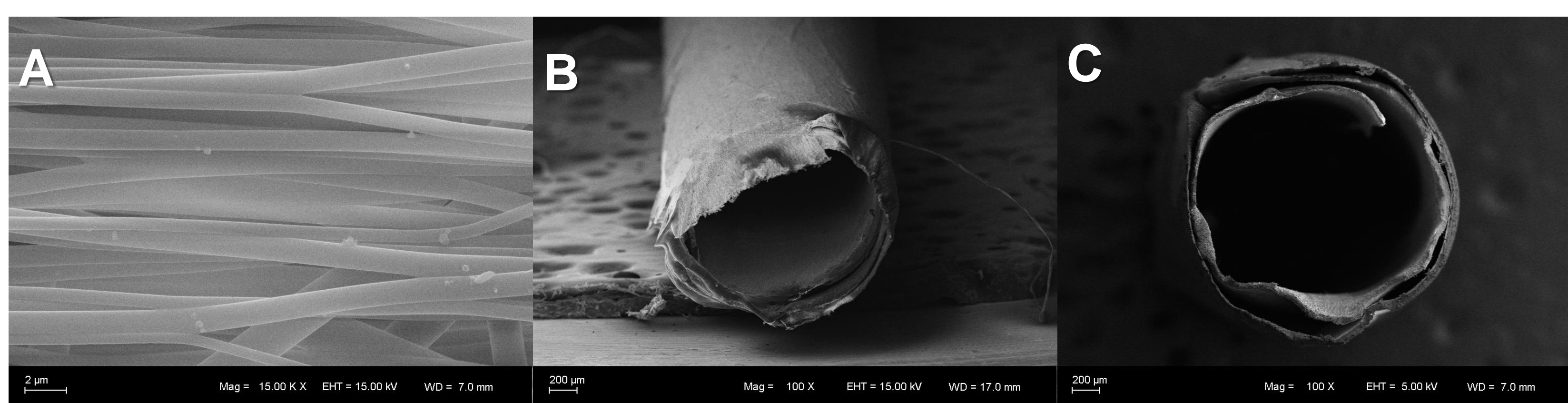


Fig. 3: imagens realizadas por MEV. 3A: Fibra alinhada de PLGA 18% com solvente hexafluoro-2-propanol. 3B: condúite em aumento de 100x. 3C: condúite em vista frontal, aumento de 100x.

Tabela 1: Análise do diâmetro e ângulo de contato das fibras

Diâmetro das Fibras	880 ± 330 nm
Ângulo de Contato	$112.5^\circ \pm 0.12^\circ$

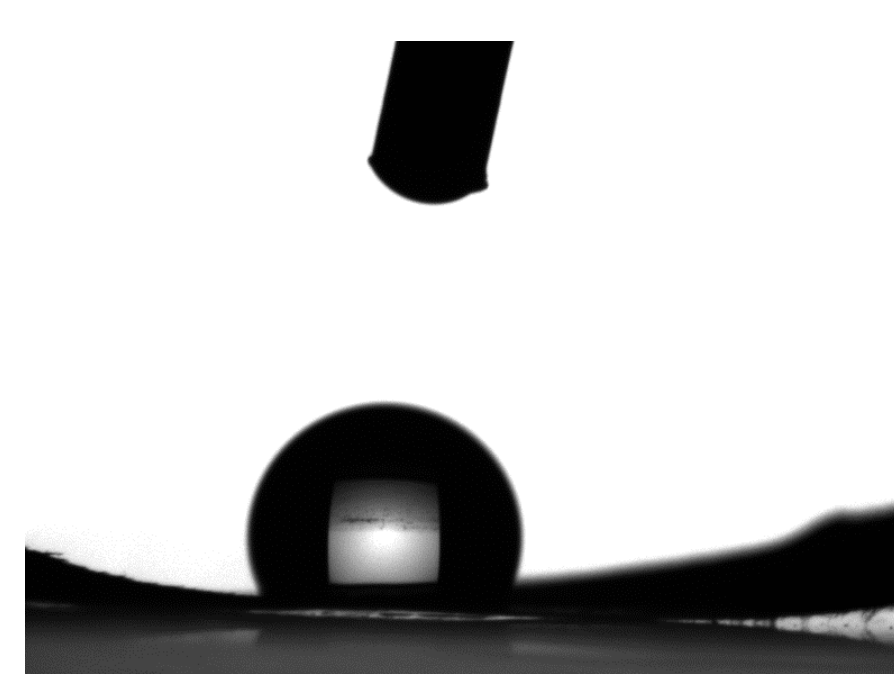
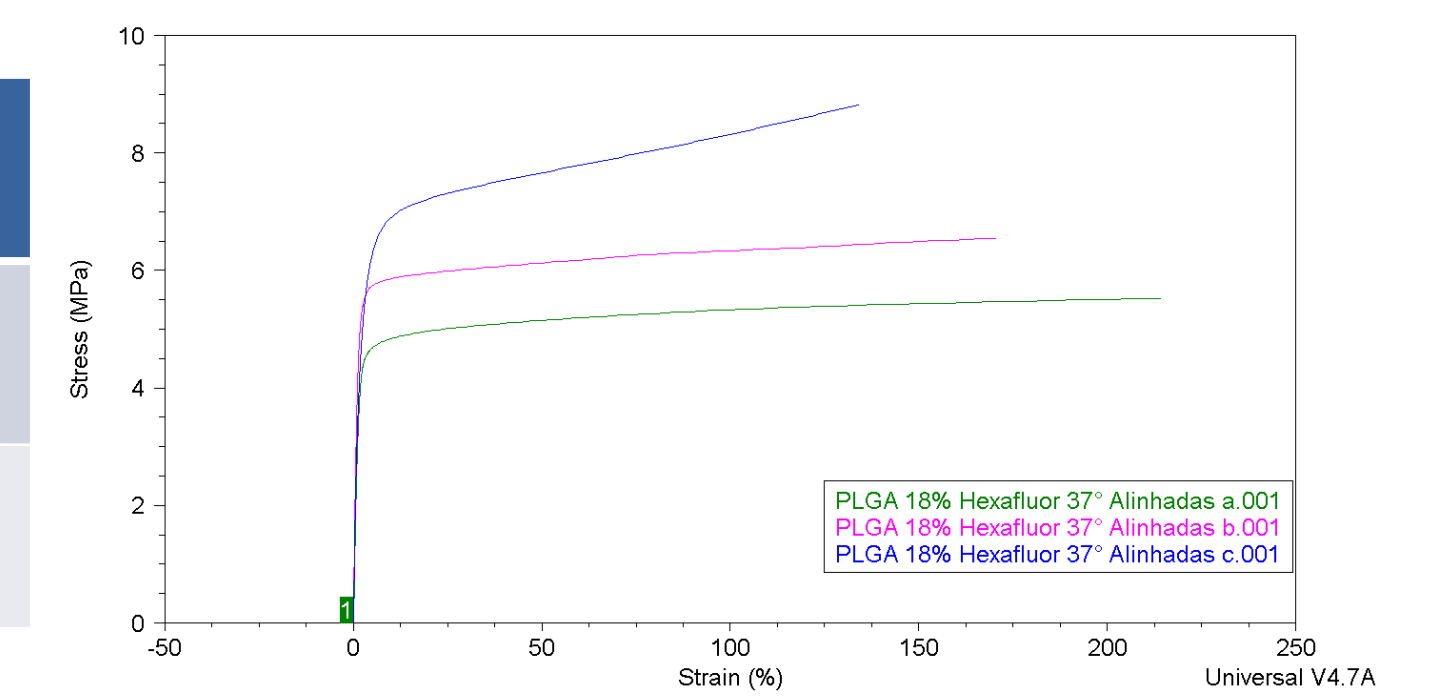


Fig. 4: ângulo de contato

Tabela 2: Medidas das propriedades mecânicas do *scaffold* antes do preparo do condúite

Módulo de Young (Mpa)	$443 \pm 75,62$
Elongação (%)	$172,64 \pm 39,85$
Carga Máxima Suportada (Mpa)	$6,962 \pm 1,68$



GRUPOS

Condúites sem Células

Condúites com Células Fora

Condúites com Células Dentro

Condúites com Células Dentro e Fora

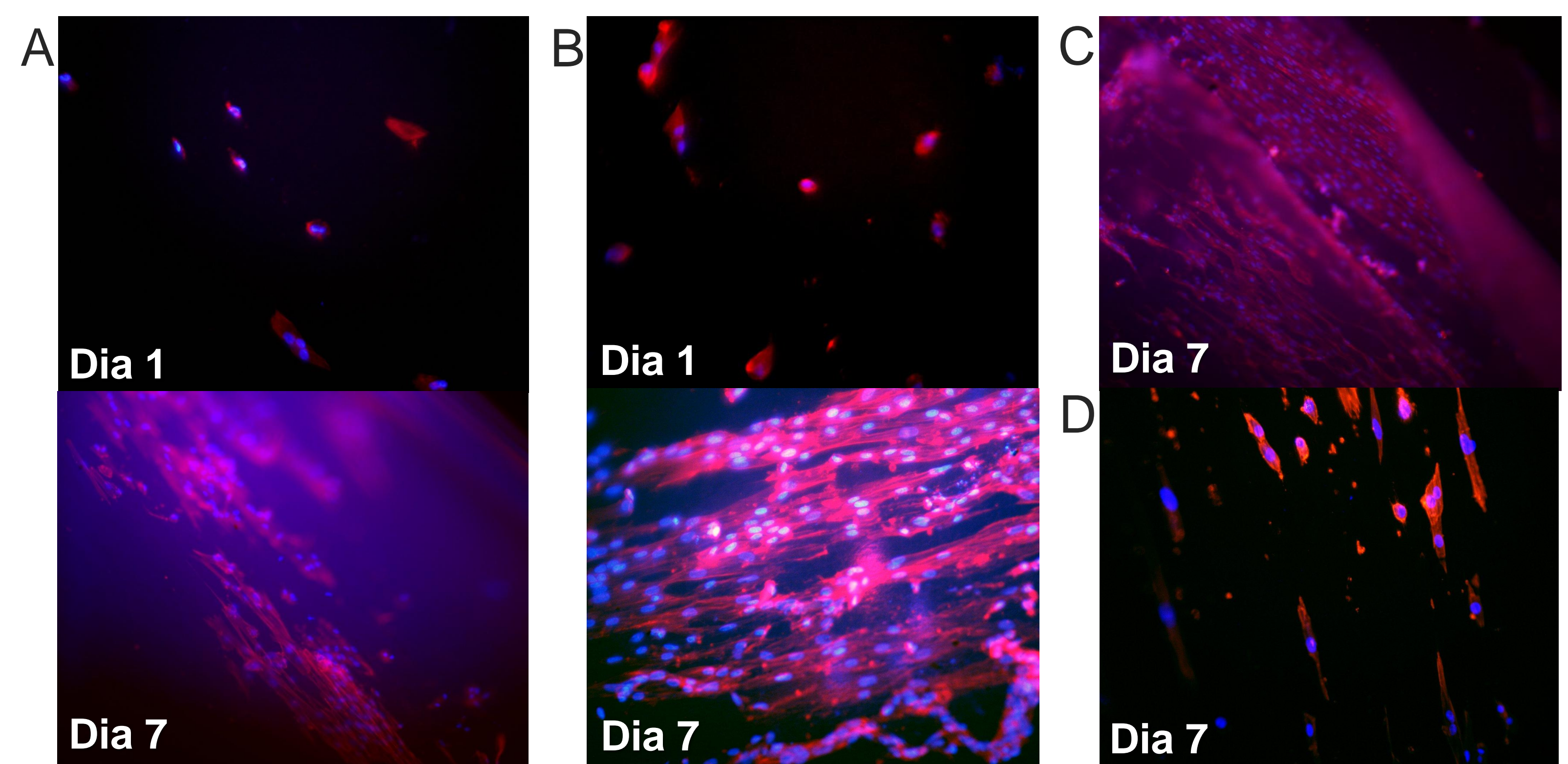


Fig. 5: Imagens realizadas por fluorescência mostrando células-tronco mesenquimais marcadas com Faloidina e DAPI após 1 e 7 dias de semeadura nos condúites. Fig. 5A: Células semeadas na superfície externa do condúite. Fig. 5B: Células semeadas na superfície interna do condúite. Fig. 5C: Células semeadas na superfície interna e externa do condúite, imagem da parte interna. Fig. 5D: Células semeadas na superfície interna e externa do condúite, imagem da parte externa.

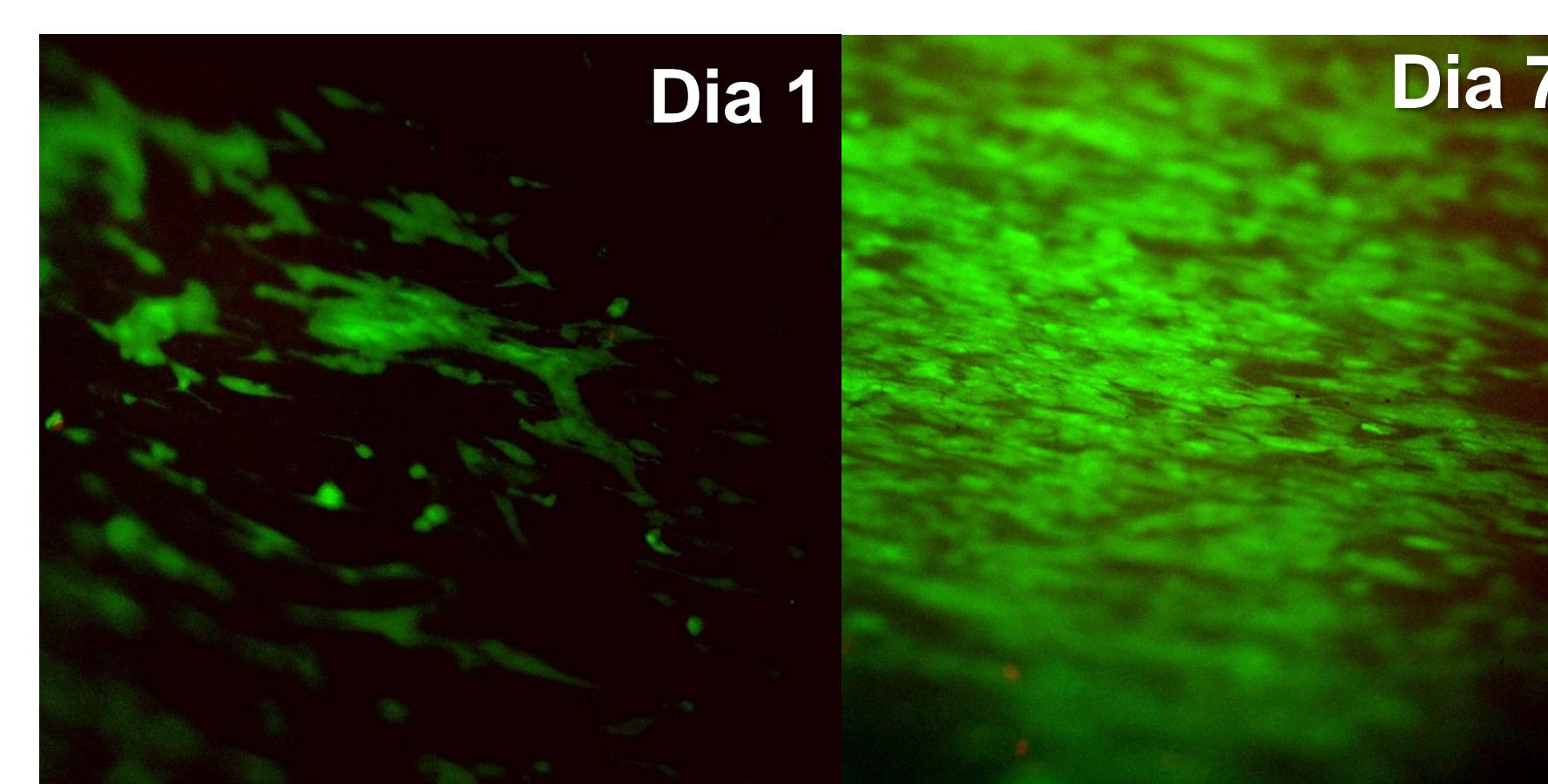
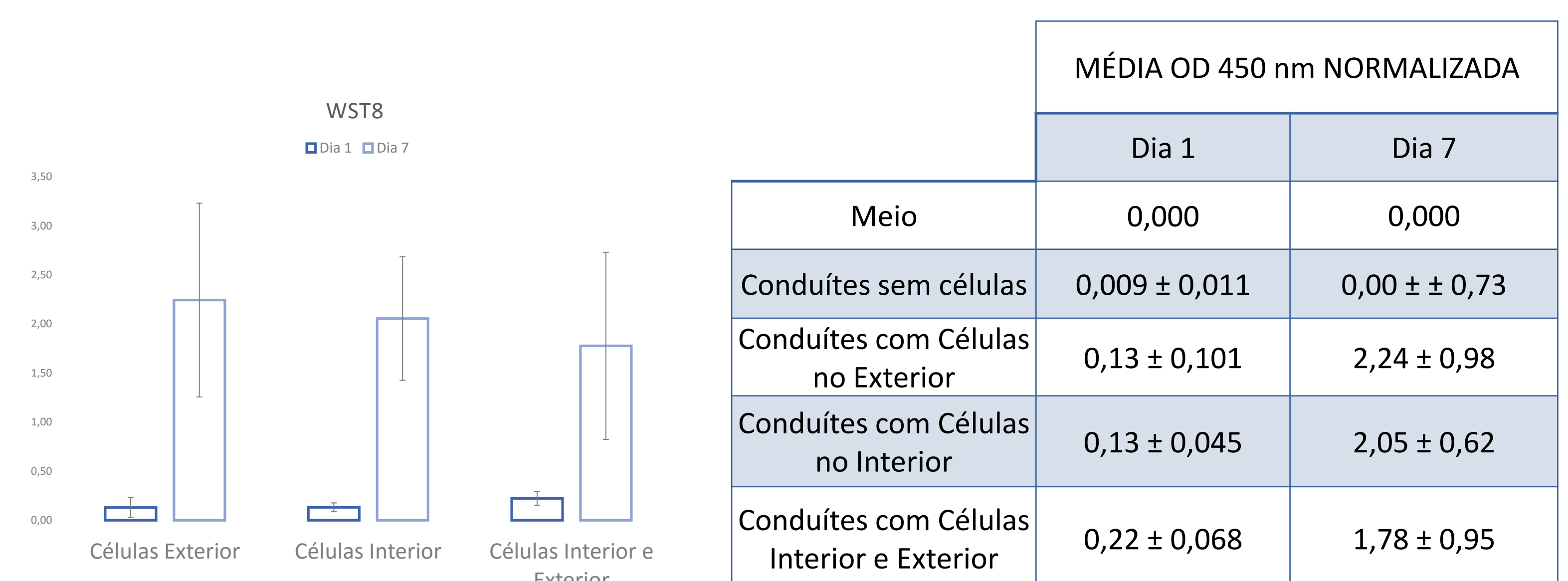


Fig. 6: Corante *live/dead*: Imagens realizadas por fluorescência mostrando células-tronco mesenquimais marcadas com fluoresceína (verde, células vivas) e dímero de etídeo (vermelho, células mortas) após 1 e 7 dias de semeadura no lado exterior dos condúites.



CONCLUSÕES

As células semeadas aderiram-se ao biomaterial e mostraram-se viáveis e com capacidade de proliferação. A microscopia eletrônica de varredura evidencia uma morfologia alinhada das fibras e um condúite bem estruturado. Os resultados obtidos fornecem informações pertinentes para considerar esses condúites como uma alternativa promissora ao enxerto autólogo de nervo periférico.

FINANCIAL SUPPORT