

# CULTIVO TRIDIMENCIONAL DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM BIOMATERIAL PARA REMODELAMENTO DE TECIDO ÓSSEO

FABIANY DA COSTA GONÇALVES, ANA HELENA PAZ, EDUARDO P. PASSOS, JOÃO ELLERA GOMES, ELIZABETH CIRNE-LIMA

Laboratório de Embriologia e Diferenciação Celular – Centro de Pesquisa Experimental, Hospital de Clínicas de Porto Alegre/UFRGS.

## INTRODUÇÃO

A perda óssea, como resultado de trauma ou doenças degenerativas, tem levado ao desenvolvimento de estratégias de substituição do tecido ósseo doente por um enxerto capaz de se integrar ao tecido saudável. A técnica de liofilização óssea possibilitou a diminuição da antigenicidade e da transmissão de doenças desses enxertos. Estudos realizados têm demonstrado a capacidade de células-tronco mesenquimais (CTMs) modularem a regeneração de tecido ósseo lesionado. Entretanto, em experimentos *in vitro*, não há consenso na literatura sobre o método, a quantidade e o tempo de exposição das células aos construtos para haver adesão celular. Dessa forma, se faz necessário a elaboração de métodos alternativos que promovam a adesão das células aos enxertos ósseos.

## OBJETIVOS

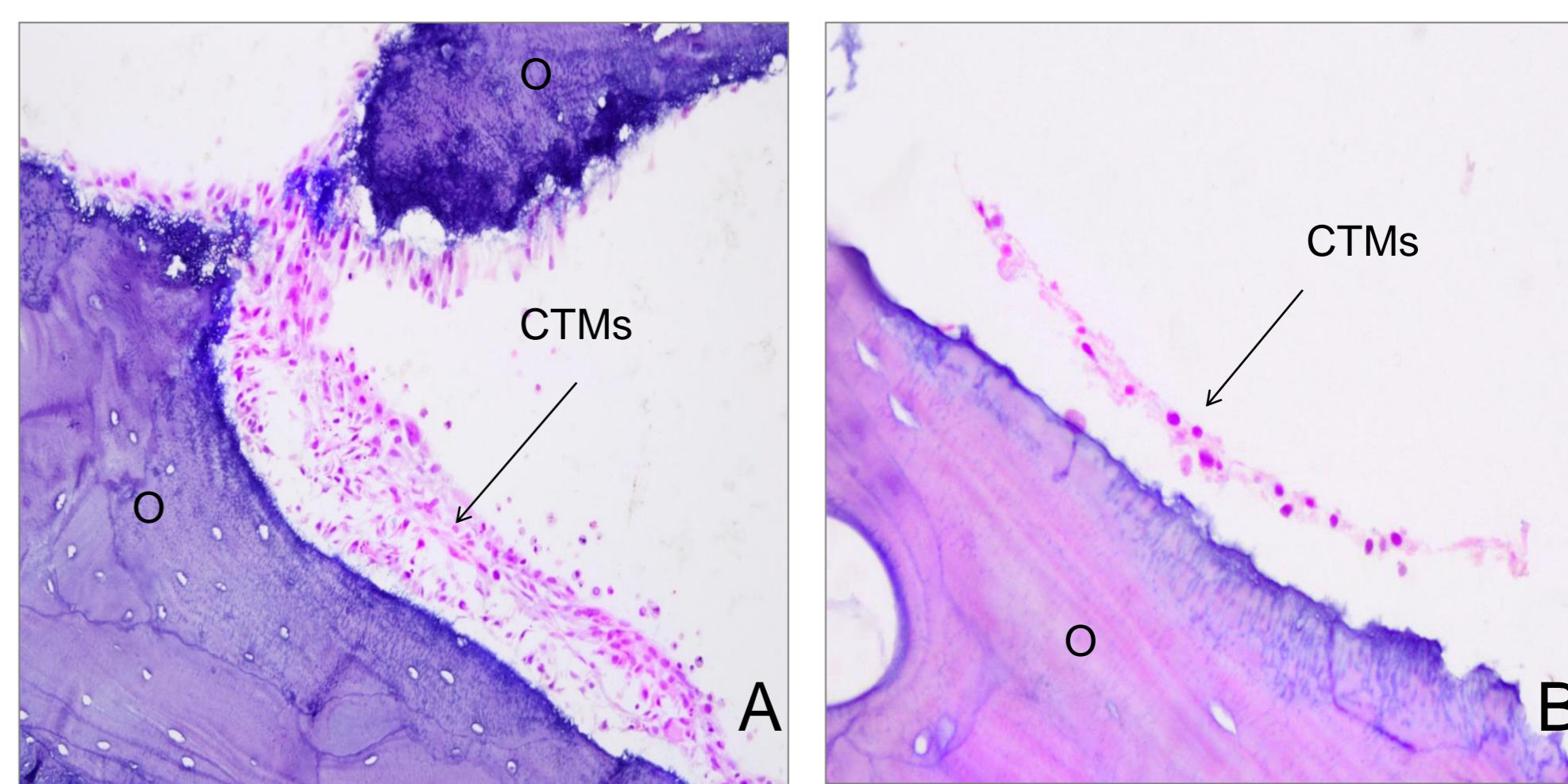
O objetivo do presente estudo é avaliar a viabilidade de uma técnica alternativa de associação entre CTMs e fragmentos de ossos liofilizados, a fim de estabelecer uma maior eficiência no sistema de indução de interação *in vitro* entre CTMs e matrizes ósseas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O co-cultivo de fragmentos ósseos liofilizados associados com CTMs e Matrigel foi realizado em estufa incubadora rotatória, para que, mecanicamente, induzisse maior possibilidade de adesão celular aos fragmentos ósseos. As culturas permaneceram na estufa a 37°C em 200rpm por 24h. Após esse período, as amostras foram fixadas e descalcificadas para posterior análise histológica. Além disso, no dia 0, 3 e 6 após o cultivo em agitação, as células foram removidas da superfície óssea e quantificadas em câmara de Neubauer pelo método de exclusão com Azul de Trypan. Como controle, foi realizado o método de cultivo convencional, em que se promove a suspensão das células no meio de cultura, e a seguir se permite sua sedimentação nos fragmentos ósseos.

## RESULTADOS

A técnica de crescimento celular no osso liofilizado em estufa incubadora rotatória possibilitou maior adesão e proliferação celular no biomaterial quando comparada ao método de cultivo convencional. As células que não aderiram na superfície óssea foram colocadas em placa de cultura, com o objetivo de avaliar a viabilidade celular após o experimento, e verificou-se a presença de aglomerados celulares viáveis em formato esférico.



**Figura 1.** Histologia (HE) demonstrando a associação de CTMs e fragmentos ósseos (O). (A) CTMs aderidas na superfície óssea pelo método em agitação. Pode-se observar a formação de múltiplas camadas celulares. (B) CTMs aderidas na superfície óssea pelo método convencional, sem a formação de camadas múltiplas.



**Figura 2.** Formação de aglomerados celulares após o cultivo celular pelo método em agitação.

## CONCLUSÃO

Dessa forma, foi desenvolvido um novo método de cultivo de CTMs em estufa rotatória com biomaterial, sugerindo que esse cultivo proporciona superior capacidade das células de se fixarem no enxerto e possibilita o uso de terapia celular associada com enxertos ósseos em cirurgias de reparação óssea em modelo animal. Análises suplementares de viabilidade e proliferação celular estão sendo realizadas para promover a padronização da técnica.