

Utilização de duas fontes de células-tronco mesenquimais para regeneração de pele em modelo animal de queimadura

Thayane Crestani¹, Daniela Steffens¹, Cristiane Scher¹, Kerlin Quintiliano¹, Annelise Ribeiro¹, Raquel Fernandes³, Dilmar Leonardi¹, Patricia Pranke¹, Carlos Alexandre Netto²

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, ² Laboratório de Isquemia Cerebral, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ³ Hospital Nossa Senhora da Conceição; Porto Alegre, Brasil. thayc@hotmail.com

INTRODUÇÃO

As células-tronco mesenquimais (CTMs) são células indiferenciadas e apresentam uma série de características que as tornam candidatas à utilização terapêutica. Suas principais características são a capacidade de auto-renovação e de diferenciação em diversos tipos celulares. A terapia celular, com o uso das células-tronco, tem sido usada na engenharia tecidual, para regenerar órgãos ou tecidos lesados, tais como a pele. A capacidade de promover a regeneração da pele é muito importante, principalmente nas grandes queimaduras e feridas crônicas, onde os tratamentos disponíveis são insuficientes para prevenir a formação de cicatrizes e promover a cura do paciente. O objetivo deste trabalho foi extrair CTMs a partir de duas fontes diferentes: cordão umbilical humano (CUH) e rim de camundongo, para serem cultivadas em biomateriais, para posterior utilização em modelo animal de defeito cutâneo, que mimetiza queimadura de terceiro grau, na tentativa de promover a regeneração de pele nos camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de CUH (peças de 8 cm) foram coletadas e as células extraídas conforme protocolo padronizado (Secco *et al*, 2008). Camundongos adultos C57/B16N tiveram seus rins extraídos, cortados, lavados com solução Hank's e deixados em contato com colagenase para liberação das células por 60 min à 37°C. As células foram inicialmente cultivadas em placas de cultivo de 6 poços. Após 24 horas, as células não aderentes foram removidas e as aderentes cultivadas até confluência total. Ao atingir a 5ª passagem, as células são caracterizadas como CTMs, conforme ensaios padrões (Dominici *et al*, 2006) e cultivadas em matrizes de nanofibras produzidas por nanotecnologia, através da técnica de *electrospinning*. As matrizes foram produzidas com o polímero poli-D,L-ácido láctico (PDLLA) e as CTMs cultivadas nas mesmas, conforme padronizado pelo grupo (Steffens *et al*, 2010), e ensaios de adesão e proliferação celular e citotoxicidade foram realizados. As matrizes de PDLLA com as células foram implantadas em modelo animal de camundongos com defeito cutâneo. Dois grupos foram estudados: Grupo 1: animais/controles: receberam implantes de matrizes de PDLLA sem células, e Grupo 2: animais que receberam implantes de matrizes de PDLLA cultivadas com CTMs de rim de camundongos isogênicos. Após o sacrifício dos animais, foram realizados cortes histológicos e serão realizadas análises imuno-histoquímicas das peças criopreservadas.

RESULTADOS

Um total de 7 amostras de CUH foi coletado de recém-nascidos a termo após cesáreas realizadas no Centro Obstétrico do Hospital Moinhos de Vento. Entre os neonatos, 6 eram do sexo masculino e 1 do sexo feminino, com idade gestacional média de 38,5±0,5 semanas, idade materna média de 29,1±6,3 anos e peso médio do neonato de 3.216±279g. As CTMs foram caracterizadas através da sua capacidade de aderência e morfologia, pelo perfil imunofenotípico característico, bem como pela capacidade de diferenciação nas linhagens adipogênica, osteogênica e condrogênica (figura 1). Os ensaios biológicos mostraram boa interação das células com as matrizes de PDLLA com baixa toxicidade. Até o momento, um total de dez animais, cinco de cada grupo, recebeu implante do biomaterial. As matrizes implantadas mostraram ser adequadas para a cobertura do defeito cutâneo, aderindo-se bem à lesão e cobrindo o local (figura 2). As análises imuno-histoquímicas serão realizadas através do uso do anticorpo anti-CD31, um marcador de angiogênese, para avaliar a neovascularização e a regeneração do tecido formado.

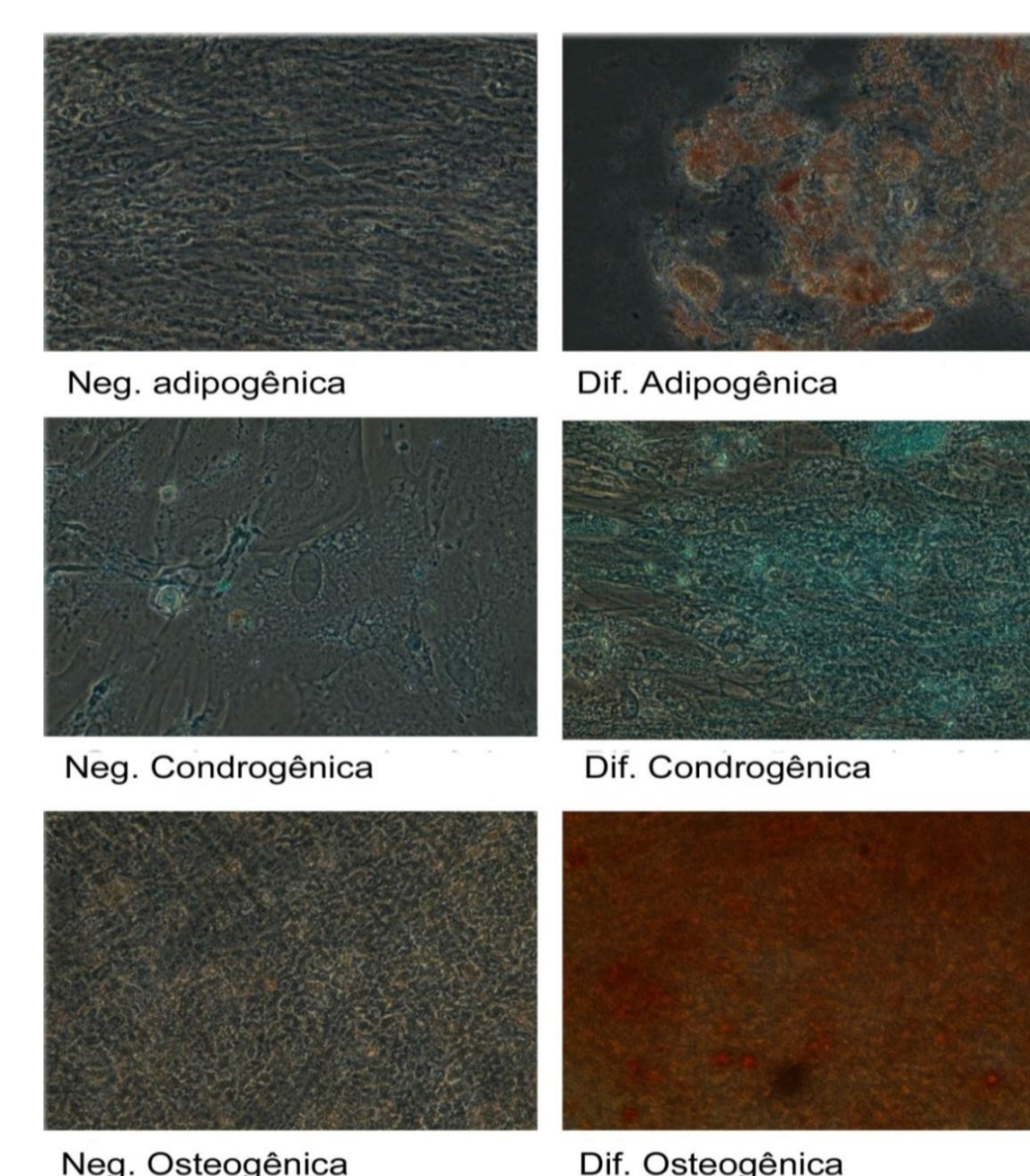


Figura 1: Diferenciação das CTMs. Controle negativo e diferenciação no tipo celular citado (400X).

CONCLUSÃO

As CTMs proveniente das duas fontes estudadas, CUH e rim de camundongos, mostraram-se eficientes como células a serem cultivadas no biomaterial produzido por nanotecnologia, bem como parecem ser boas candidatas a serem usadas na engenharia de tecidos para a regeneração de pele em modelo animal de queimadura.

Referências

- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop Dj, Horwitz E Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8: 315-7, 2006.
- Secco M; Zucconi E; Vieira N; Fogaça LLQ; Cerqueira A; Carvalho MDF; Jazedje T.; Okamoto K; Muotri A; Zatz M. Multipotent Stem Cells from Umbilical Cord: Cord is richer than blood. *Stem Cells*. v. 26, p. 146-150, 2008.
- Steffens D; Leonardi D; Rosa A; Crestani T, Scher C; Buffon A; Soster PRL; Morais M; Costa JAV; Pranke P. Use of nanotechnology in bioengineering to produce skin, through the cultivation of stem cells in matrices produced by *electrospinning*. Em publicação: *Anais do Congresso Brasileiro de Células-tronco e Terapia Celul ar*, 2010.



Figura 2: Implante das matrizes de nanofibras em modelo animal de defeito cutâneo.

Apoio financeiro: