

# Desenvolvimento de um condúite de nanofibras alinhadas de PLGA produzidas por *electrospinning* semeado com células precursoras neurais como alternativa de enxerto artificial para lesões do nervo periférico

Laura Gonçalves Pozzobon <sup>1,2,3</sup>, Profa. Dra. Patricia Pranke <sup>1, 2, 4</sup>

1 Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia; 2 Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). 3 Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). 4 Instituto de Pesquisa com Células-tronco. Porto Alegre, RS, Brasil

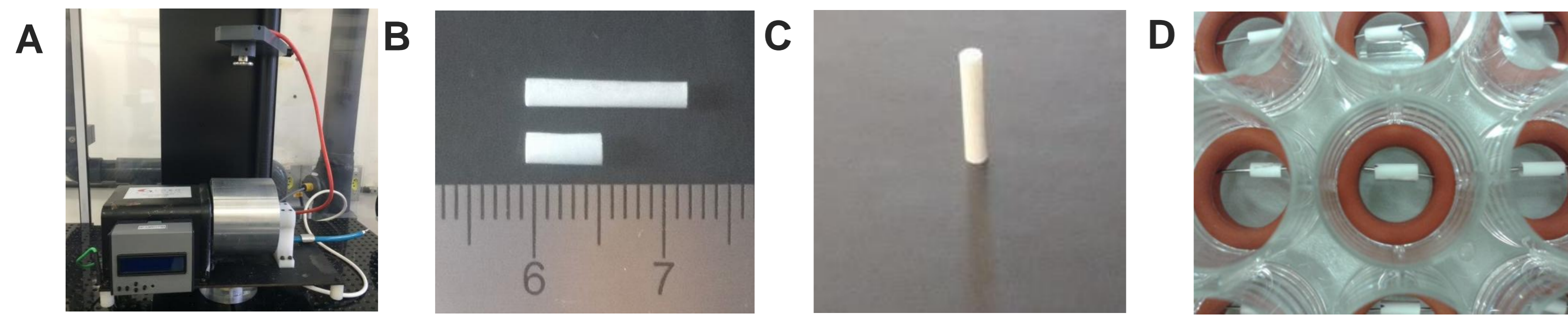
E-mail: laura.pozzobon@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Lesões de nervo periférico causam prejuízos às funções motoras e sensitivas do paciente e uma diminuição da qualidade de vida – seja por limitação de movimentos ou dor neuropática. Uma alternativa para reparar lesões de nervo periférico é a construção de enxertos artificiais por engenharia de tecidos, conjugando biomateriais e células tronco. O objetivo desse trabalho foi produzir condúites de nanofibras alinhadas de poli(ácido láctico-ácido co-glicólico) (PLGA) e testar a sua biocompatibilidade, estabelecendo uma abordagem alternativa ao uso de autoenxerto na lesão do nervo periférico utilizando nanotecnologia e células-tronco.

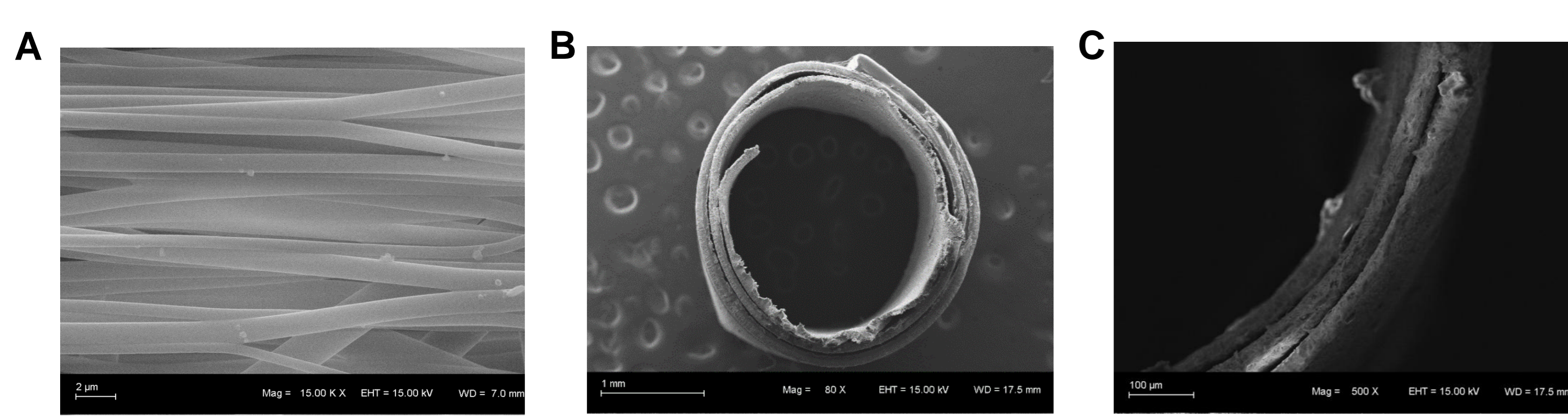
## MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo, utilizou-se uma solução de 18% PLGA para produzir nanofibras alinhadas por *electrospinning*. Um condúite com 1,5 mm de diâmetro foi produzido rolando a matriz de nanofibras alinhadas em torno de uma agulha (Figura 1). Um grupo de condúites foi tratado com 0,2% gelatina para aumentar a adesão celular. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para a caracterização da morfologia, para a medida do diâmetro e do coeficiente de alinhamento das nanofibras. Após produção e caracterização, os condúites foram semeados com células-tronco embrionárias de camundongo, que foram submetidas a um protocolo de diferenciação em precursores neurais.



**Figura 1:** (A) Aparelho de *electrospinning*, (B) condúites com comprimento de 1 cm e 0,5 cm, (C) condúite - vista lateral e superior (D) condúites imobilizados por 'O' rings em placa de 24 poços.

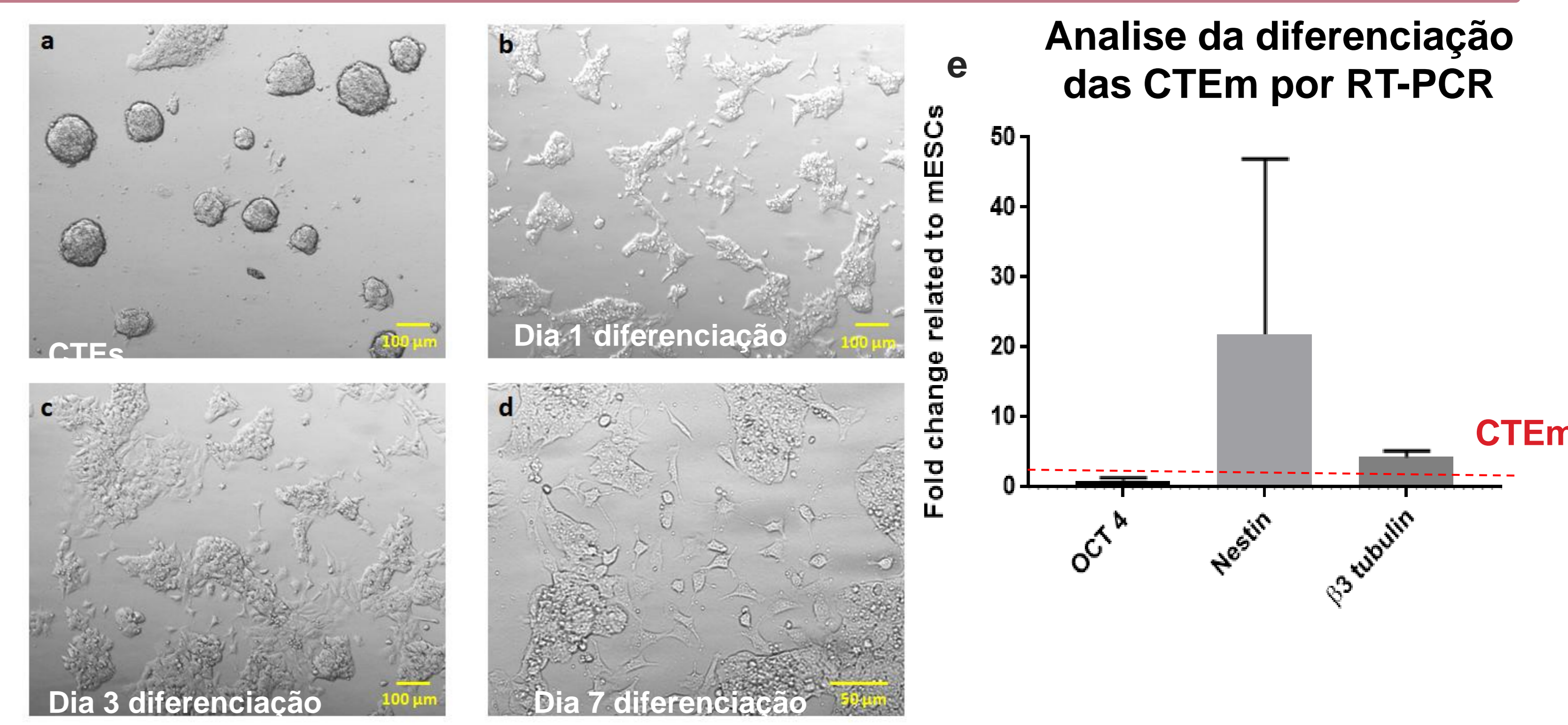
## RESULTADOS



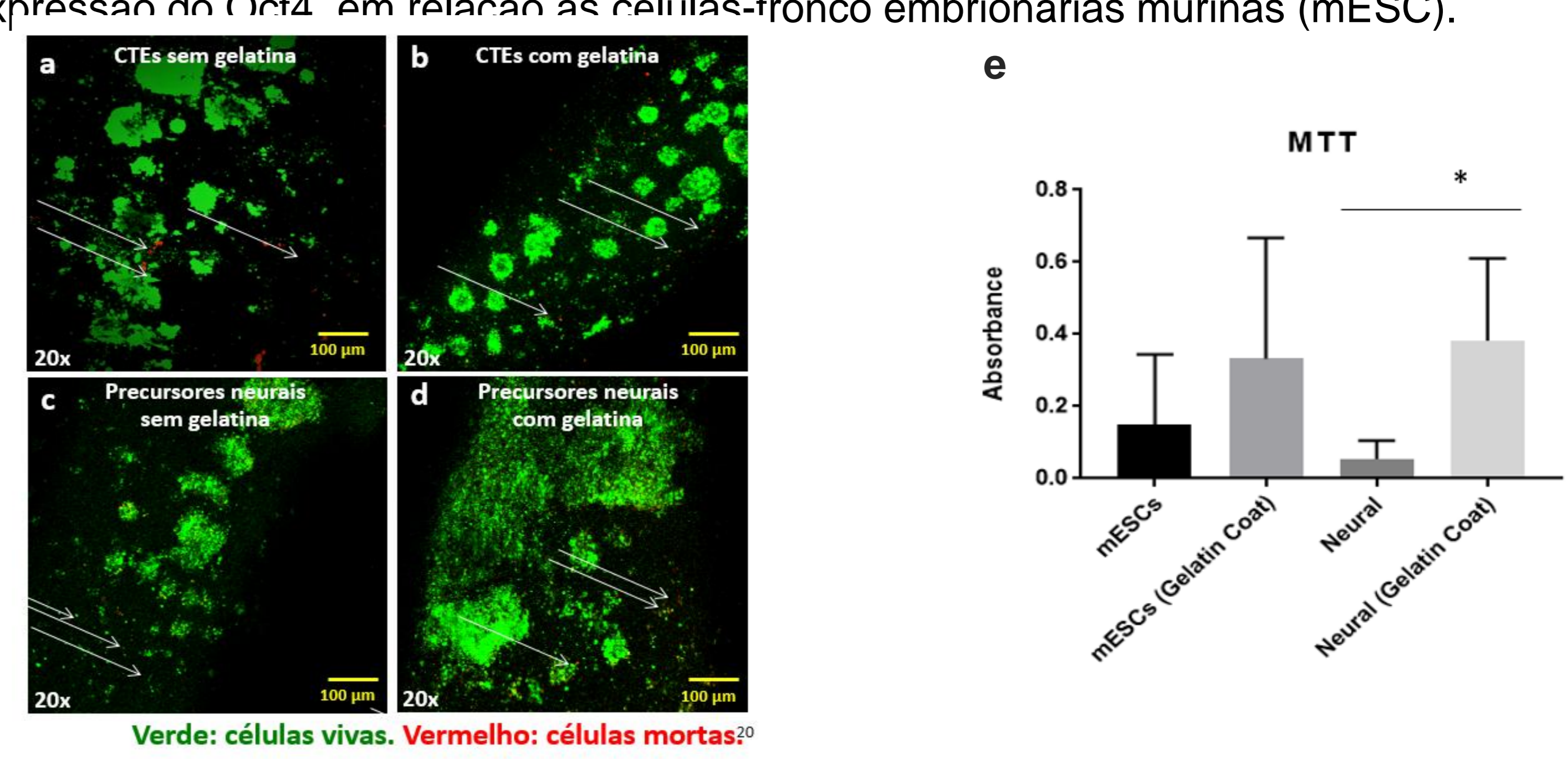
**Figura 2:** Análise por MEV. (A) Nanofibras alinhadas de PLGA, em magnificação de 15.000x, (B) vista do topo do condúite, em magnificação de 80x e (C) vista das três camadas do condúite, em magnificação de 500x.

**Tabela 1:** Caracterização das fibras alinhadas de PLGA sem e com tratamento com gelatina.

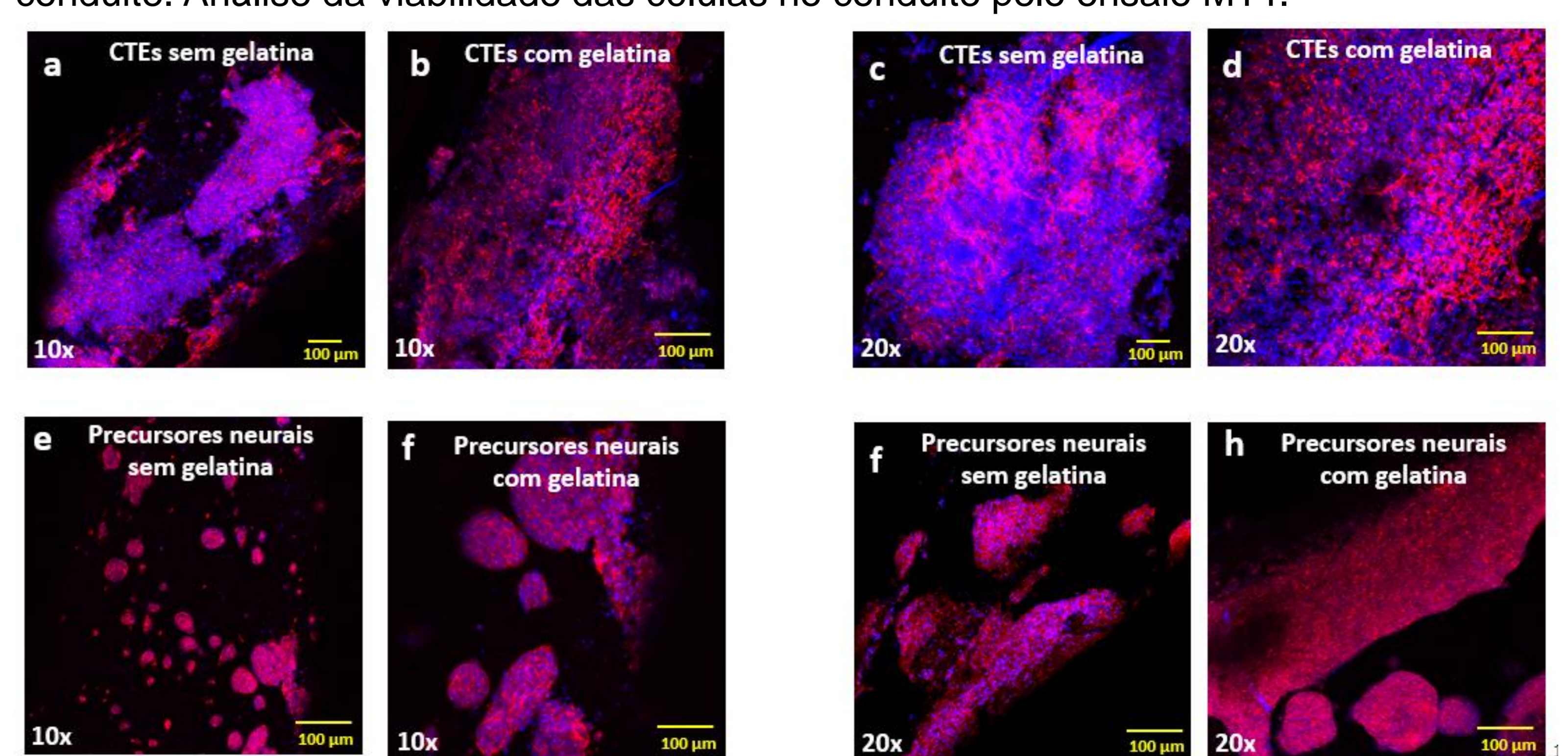
Grupos	Coefficiente de alinhamento das fibras	Ângulo de contato	Espessura do scaffold (µm)
Fibras alinhadas de PLGA incubadas à 37°C overnight	0,817 ± 0,07	112,5° ± 0,12	70,3 ± 1,05
Fibras alinhadas de PLGA incubadas à 37°C overnight com gelatina	0,655 ± 0,045	0°	88,4 ± 2,08



**Figura 4:** Diferenciação das células-tronco embrionárias em células precursoras neurais. (A-D) morfologia das células em cultivo. (E) Análise por PCR em tempo real mostrando a expressão aumentada, nas células precursoras neurais, da nestina (marcador de precursores neurais) e b3 tubulina (marcador de neurônios) bem como a diminuição da expressão do Oct4, em relação às células-tronco embrionárias murinas (mESC).



**Figura 5:** Análise da viabilidade celular com o ensaio Live/Dead mostrando (A) células-tronco embrionárias sem gelatina, (B) células-tronco embrionárias com gelatina, (C) precursores neurais sem gelatina e (D) precursores neurais com gelatina. (E) Imagens de microscopia confocal da marcação Live/Dead das células cultivadas no lumen do condúite. Análise da viabilidade das células no condúite pelo ensaio MTT.



**Figura 6:** Análise de adesão e proliferação das células realizada através de microscopia confocal com marcação do núcleo (DAPI, em azul) e actina (faloidina/rhodamina, em vermelho).

## CONCLUSÕES

Nesse estudo, um condúite de PLGA com nanofibras alinhadas foi produzido e caracterizado, sendo que o mesmo mostrou uma boa integração célula-condúite mostrando-se como uma alternativa promissora para uso como enxerto de nervo periférico.

FINANCIAL SUPPORT