

## Conduite biodegradável de fibras produzidas por eletrofiação semeado com células-tronco mesenquimais como alternativa de enxerto artificial para lesões do nervo periférico

Cristian Teixeira<sup>1,2,3</sup>, Prof<sup>a</sup>. Dra. Patricia Pranke<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Hematologia e células-tronco, Faculdade de Farmácia, <sup>2</sup>Laboratório de Células-tronco, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>3</sup>Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre; <sup>4</sup>Instituto de Pesquisa com Células-tronco, Porto Alegre, RS, Brasil

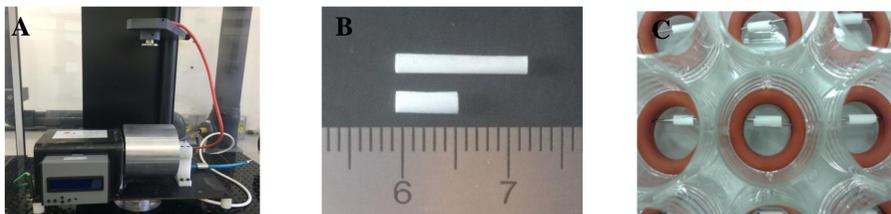
e-mail: patricipranke@ufrgs.br

### INTRODUÇÃO

Lesões do 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 produção de enxertos artificiais através da engenharia de tecidos, associando biomateriais e células-tronco. O presente estudo tem como objetivo produzir um conduite de fibras biodegradáveis, testar a sua biocompatibilidade e analisar os efeitos do implante de conduite de poli(ácido láctico-ácido coglicólico) (PLGA) associado com células-tronco na regeneração do nervo isquiático.

### MATERIAIS & MÉTODOS

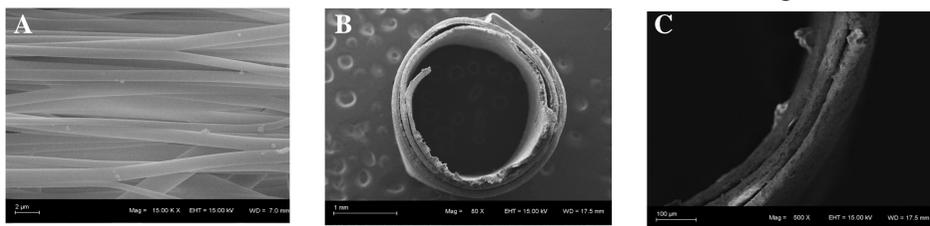
- O conduite de fibras alinhadas foi desenvolvido através da técnica de eletrofiação, utilizando uma solução de 18% de PLGA em hexafluoro-2 propanol (Figura 1 A). O conduite foi fabricado enrolando a matriz de PLGA, ao redor de um prego de 1mm fixado em uma placa de 24 poços com apoio dos *O-rings* (Figura 1 B,C).
- As células-tronco mesenquimais foram isoladas e cultivadas no lúmen do conduite. A viabilidade e a adesão celular foram analisadas através dos ensaios de *live/dead* e Wst8.
- Para a realização dos testes *in vivo*, foram utilizados ratos Wistar machos, com 45 dias, pesando 250g (experimentos autorizados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS, CEUA 32708).
- Um estudo piloto de modelo de lesão do nervo por transecção foi realizado utilizando-se 10 animais, tendo sido estudados os seguintes grupos: controle lesão do nervo isquiático (LNI), LNI + implante de conduite de fibras alinhadas de PLGA, LNI + conduite de fibras alinhadas de PLGA/GelMA e o grupo LNI + conduite PLGA com células-tronco mesenquimais de rato.



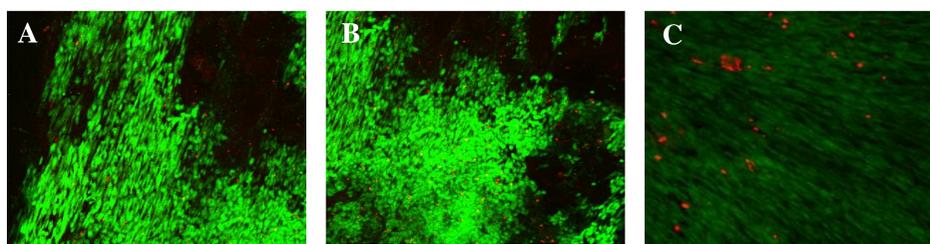
**Figura 1:** (A) Aparelho de *electrospinning*, (B) condutes com comprimento de 1 cm e 0,5 cm, (C) condutes imobilizados por 'O' rings em placa de 24 poços.

### RESULTADOS

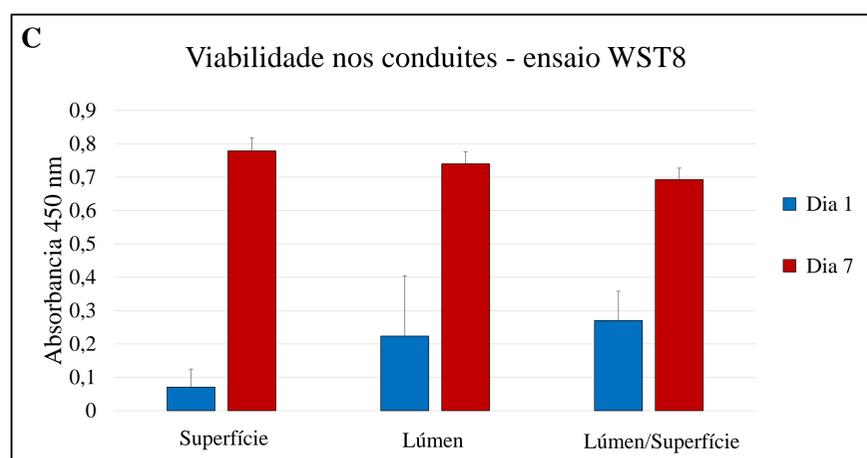
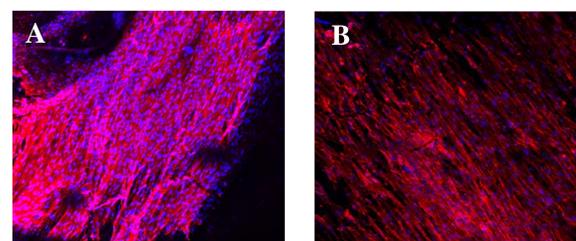
As imagens de MEV mostram que os *scaffolds* apresentam fibras uniformemente alinhadas com diâmetro médio de  $880 \text{ nm} \pm 330$  (Figura 2).



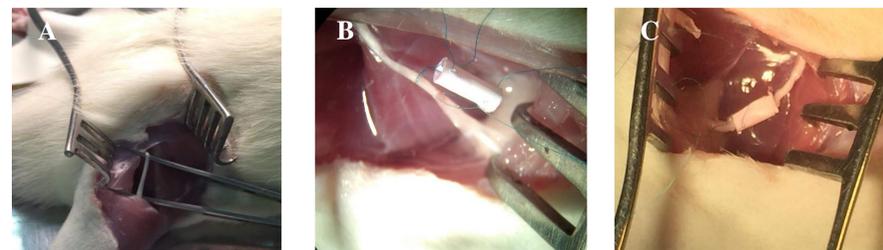
**Figura 2:** Análise por MEV. (A) Nanofibras alinhadas de PLGA, em magnificação de 15.000x, (B) vista do topo do conduite, em magnificação de 80x e (C) vista das três camadas do conduite, em magnificação de 500x.



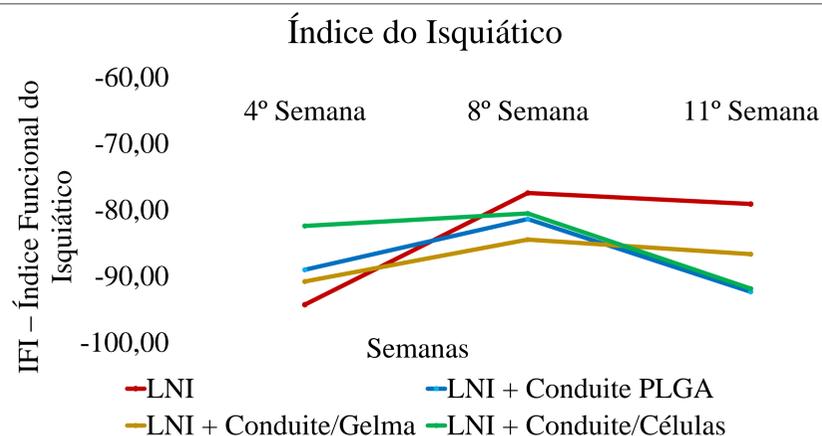
**Figure 3.** Ensaio *Live/dead* mostrando as células-tronco mesenquimais semeadas nos condutes no dia 7 em cultura: células verdes - vivas, células vermelhas - mortas. (A) células no lúmen do conduite, (B) células na superfície do conduite, (C) células na placa de cultivo.



**Figura 4:** Análise de microscopia confocal da morfologia das células semeadas nos condutes. (A) Células-tronco mesenquimais semeadas no lúmen do conduite. Vermelho - Filamentos de actina corados com faloidina rodamina, azul - núcleos de células corados com DAPI. (B) Células-tronco mesenquimais semeadas na superfície externa. (C) Análise da viabilidade celular após 1 e 7 dias em cultivo pelo ensaio WSt8.



**Figura 5:** Procedimento cirúrgico para implantação do conduite. (A) Isolamento e exposição do nervo isquiático, (B) Posicionamento do conduite, (C) conduite implantado no local da lesão.



**Figura 6:** Resultados da avaliação motora através do teste IFI - Índice Funcional do Isquiático. LNI - Lesão do Nervo Isquiático.

### CONCLUSÃO

Nesse estudo foi possível obter uma padronização da produção de um conduite biodegradável de nanofibras alinhadas que age como guia para a regeneração após uma lesão do nervo periférico. O conduite mostrou ótima biocompatibilidade com as células-tronco mesenquimais. Todavia não houve regeneração acelerada nos grupos que receberam o implante de conduite no estudo piloto. Ainda serão realizados estudos complementares para a avaliação do conduite na regeneração do nervo periférico.