

Caracterização do comportamento de células-tronco mesenquimais cultivadas em Matrigel™ para o emprego na engenharia de tecidos de cartilagem.

Raphaella Josino*¹, Marco Augusto Stimamiglio¹

¹Laboratório de Biologia Básica de Células-Tronco, Instituto Carlos Chagas (ICC) – FIOCRUZ/PR

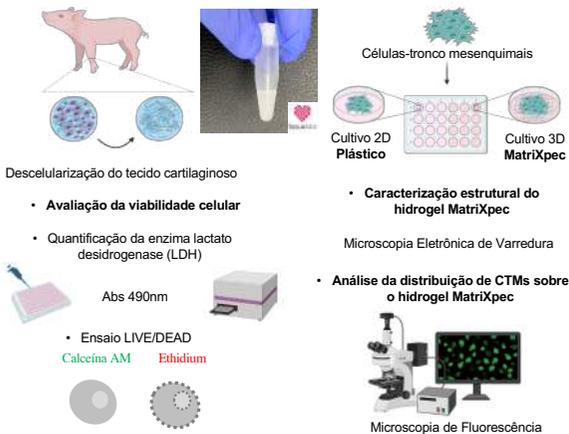
*Autora correspondente: rjosino@aluno.fiocruz.br



Introdução

A cartilagem articular é um tecido altamente especializado, capaz de tolerar uma grande quantidade de estresse mecânico intenso e repetitivo. Uma vez lesionadas, as articulações possuem potencial restrito de cura espontânea. Substratos biológicos derivados de matriz extracelular descelerizada (dMEC) representam um ambiente promissor para o cultivo de células-tronco mesenquimais (CTMs) para a aplicação na medicina regenerativa da cartilagem articular. O hidrogel Matrigel™, produzido a partir de tecido cartilaginoso descelerizado, é um candidato interessante para promover a diferenciação homóloga das CTMs, devido às pistas biomecânicas e moleculares que são encontradas no tecido nativo e preservadas durante o processamento e produção da dECM. O presente trabalho busca caracterizar o comportamento de CTMs cultivadas sobre Matrigel™ em termos de viabilidade, proliferação e diferenciação celular.

Procedimentos Experimentais



Resultados

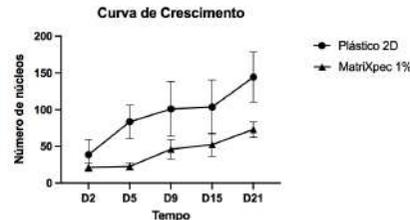


Figura 1. Curva de crescimento das CTMs cultivadas sobre plástico e Matrigel™ contabilizadas a partir de núcleos positivos para DAPI. Ao final de 21 dias de cultivo celular, as CTMs cultivadas sobre plástico apresentaram-se como uma população maior de células em comparação ao cultivo sobre o hidrogel.

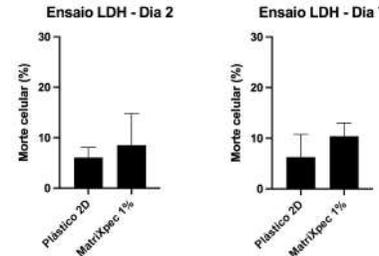


Figura 2. Ensaio de viabilidade celular LDH. Na condição 2D, o cultivo apresenta em média 5% de morte celular ao final de 2 dias e 8% ao final de 7 dias. Sobre Matrigel, 6% após 48h e 10% após 7 dias.

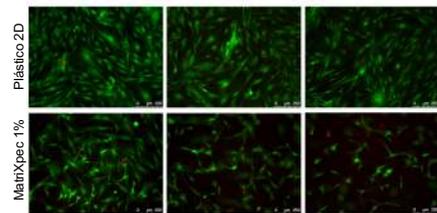


Figura 3. Ensaio LIVE/DEAD após 7 dias de cultivo celular. Células vivas são marcadas em verde enquanto núcleos de células mortas são evidenciados na cor vermelha.

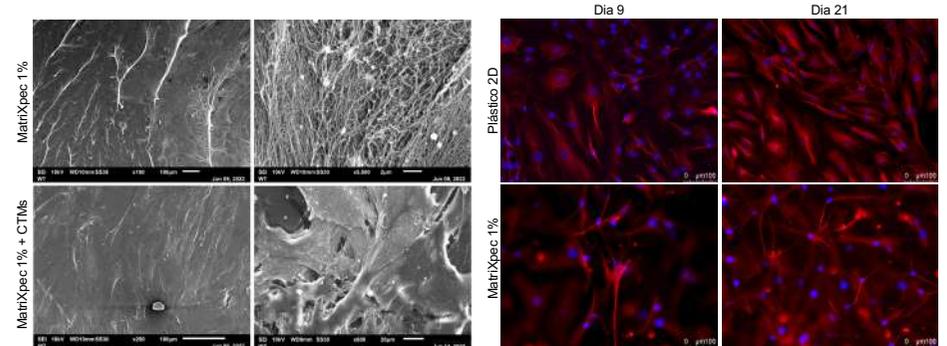


Figura 4. Caracterização da ultraestrutura do hidrogel Matrigel™ através de microscopia eletrônica de varredura. O biomaterial apresenta uma estrutura altamente reticulada e fibrosa.

Figura 5. Aspecto morfológico das CTMs cultivadas sobre Matrigel™ nos dias 9 e 21 do cultivo celular. Quando cultivadas em um ambiente tridimensional – representado por Matrigel™ – as CTMs adotam uma morfologia fusiforme, característica importante para que os diferentes planos do hidrogel sejam povoados.

Conclusões Preliminares

- O cultivo de células-tronco mesenquimais sobre o hidrogel Matrigel™ é viável, uma vez que as células não apresentam um percentual importante de morte celular quando submetidas a tal condição;
- A ultraestrutura do hidrogel Matrigel™ apresenta-se fibrosa e reticulada, oferecendo uma miríade de informações tridimensionais às células;
- A dinâmica de crescimento das células-tronco mesenquimais cultivadas em Matrigel™ é diferente do observado quando seu cultivo é realizado sobre plástico. As células tendem a crescer de forma mais lenta;
- No cultivo sobre Matrigel™, observa-se a tendência da diminuição dos pontos de contato da célula com o hidrogel, revelando uma morfologia fusiforme e projeções em diversos planos do hidrogel tridimensional. Hipotetiza-se que o aspecto fusiforme adotado pelas células seja importante em termos de migração e povoação de diferentes planos do hidrogel.

Referências

CAPLAN, A. I.; DENNIS, J. E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 98, n. 5, p. 1076-1084, 2006.
 CARBALLO, C. B.; NAKAGAWA, Y.; SEKIYA, I.; RODEO, S. A. Basic Science of Articular Cartilage. *Clinics in Sports Medicine*, v. 36, n. 3, p. 413-425, 2017.
 CATOIRA M.C.; FUSARO L.; DI FRANCESCO D.; RAMELLA M.; BOCCAFOSCHI F. Overview of natural hydrogels for regenerative medicine applications. *J Mater Sci Mater Med*, v. 30, n. 10, p. 115, 2019.



Caracterização do comportamento de Células-Tronco Mesenquimais cultivadas em MatriXpec™ para o emprego na engenharia de tecidos de cartilagem.

Raphaella Josino^{1*}; Marco Augusto Stimamiglio¹

¹Instituto Carlos Chagas – FIOCRUZ/PR, Departamento de Ciências Básicas de Células-Tronco, Curitiba, Paraná, Brasil.

*raphaellajosino3006@gmail.com; Tel.: (47) 9 9675-1037.

A cartilagem articular é um tecido altamente especializado, capaz de tolerar uma grande quantidade de estresse físico intenso e repetitivo, no entanto, sua capacidade de cura espontânea é restrita. Tanto as características funcionais notáveis quanto as limitações de cura refletem a complexidade de sua estrutura e biologia, como a baixa atividade mitótica dos condrócitos e ausência de vascularização. Uma vez lesionado, as injúrias no tecido cartilaginoso tendem a se acumular e podem levar a quadros graves de doenças articulares como a osteoartrite, considerada a doença articular mais comum no mundo, afetando cerca de 600 milhões de pessoas. Diante desse cenário, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias para promover o reparo de tecidos cartilagosos lesionados. O uso de biomateriais e a construção de arcabouços tridimensionais (3D) vem ao encontro dessa demanda clínica, possibilitando que células-tronco mesenquimais (CTM) sejam incorporadas aos processos de biofabricação de tecidos para o uso na medicina regenerativa. O objetivo do presente trabalho é caracterizar a dinâmica de comportamento das CTM cultivadas tridimensionalmente sobre o hidrogel MatriXpec™, um biomaterial comercial obtido a partir de tecido cartilaginoso descelularizado. O hidrogel MatriXpec™ foi avaliado quanto à sua ultraestrutura pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e capacidade de permitir a adesão e cultivo de CTM humanas derivadas do tecido adiposo. Estas avaliações foram feitas por marcações imunofluorescentes e ensaios de viabilidade celular por meio da quantificação da enzima lactato desidrogenase (LDH) no sobrenadante de cultivo, respectivamente. Após polimerização, o hidrogel apresentou estrutura tridimensional fibrosa, justificada por sua composição colágena, a qual representa ambiente mecânica e biologicamente similar ao encontrado pelas células no tecido cartilaginoso nativo. Foi possível verificar que as CTM aderem ao hidrogel e ocupam todos os planos do mesmo. Por fim, verificou-se que o hidrogel não possui efeito citotóxico e permite a manutenção dos cultivos celulares. O hidrogel MatriXpec™ demonstra ser um candidato promissor para o cultivo de células-tronco para aplicações no reparo de lesões cartilagosas devido às suas possíveis propriedades condro-instrutoras. Como perspectiva, têm-se a avaliação da diferenciação cartilaginosa a partir de CTM cultivadas em MatriXpec™.

Palavra-chave: Arcabouço 3D; Condrogênese; Hidrogel; Medicina Regenerativa; Terapia Celular.