

AVALIAÇÃO *IN VITRO* DO COMPORTAMENTO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM BIOMATERIAIS NANOESTRUTURADOS CONTENDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ALGINATO E CLORETO DE CÁLCIO COMO ESTRATÉGIA EM MEDICINA REGENERATIVA

Carolina Landau Albrecht¹, Profa. Dra. Patricia Pranke^{1, 2, 3}

¹ Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia; ² Programa de Pós-Graduação em Fisiologia; Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). ³ Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT). Porto Alegre, RS, Brasil.
E-mail: carollalb@gmail.com / patriciapranke@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

O alginato vem sendo estudado devido às suas potenciais aplicações em medicina regenerativa. Trata-se de um polímero natural obtido de diversas espécies de algas. Sob condições ideais de pH, com a adição de um íon bivalente, como o cálcio, o alginato é capaz de formar um hidrogel que possui propriedades semelhantes à matriz extracelular, sendo um produto possível de ser usado para a engenharia de tecidos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar quais as concentrações ideais de cálcio, alginato e células-tronco mesenquimais (CTMs) para a produção de biomateriais como estratégia para a medicina regenerativa.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados com CTMs extraídas de dentes humanos decíduos esfoliados. Primeiramente, as CTMs, em concentrações de 100.000, 200.000 ou 400.000 por poço, foram adicionadas ao alginato 1% (m/v) e tratadas com 50mM de cloreto de cálcio por 30 minutos. Em um experimento subsequente, 400.000 células/poço foram misturadas a alginato 0,5% e 1%, com a adição de 50mM de CaCl₂. Por fim, as células, em uma densidade de 400.000/poço, foram misturadas ao alginato 1% e tratadas com diferentes concentrações de CaCl₂ (0; 25; 50; 75; e 100mM). Como controle dos experimentos, as células foram cultivadas normalmente em placa de cultura (TCP). A viabilidade celular foi avaliada após uma semana pelo ensaio de MTT (0,25mg/mL) e visualizada por microscopia de fluorescência, após coloração com diacetato de fluoresceína e iodeto de propídio. Como medida de citotoxicidade, a enzima intracelular lactato desidrogenase (LDH) foi dosada e o cálcio livre foi quantificado nos sobrenadantes dos poços.

RESULTADOS

Os resultados demonstraram que, após sete dias, não houve diferença estatística significativa entre os biomateriais de alginato 1%, reticulado com 50mM de cálcio, com 100.000 células e os poços controle. No entanto, em concentrações maiores (principalmente de 400.000/poço) demonstrou-se que a viabilidade celular foi superior nos biomateriais em comparação com o controle (figura 1A). Ainda, as concentrações de cálcio livre mantiveram-se constantes (cerca de 2mM em todos os poços). As dosagens de LDH corroboraram com os dados acima ao revelar maiores níveis da enzima nos poços sem alginato e com altas densidades de células. Após uma semana, os *scaffolds* de alginato 1% tiveram melhor desempenho em relação à concentração de 0,5% e ao controle (figura 1B). Por fim, as absorbâncias médias de 400.000 células nos biomateriais com 25 e 50mM de CaCl₂ foram superiores ao controle, porém 25mM de cálcio não reticularam completamente o alginato, gerando géis muito fluidos (figura 1C).

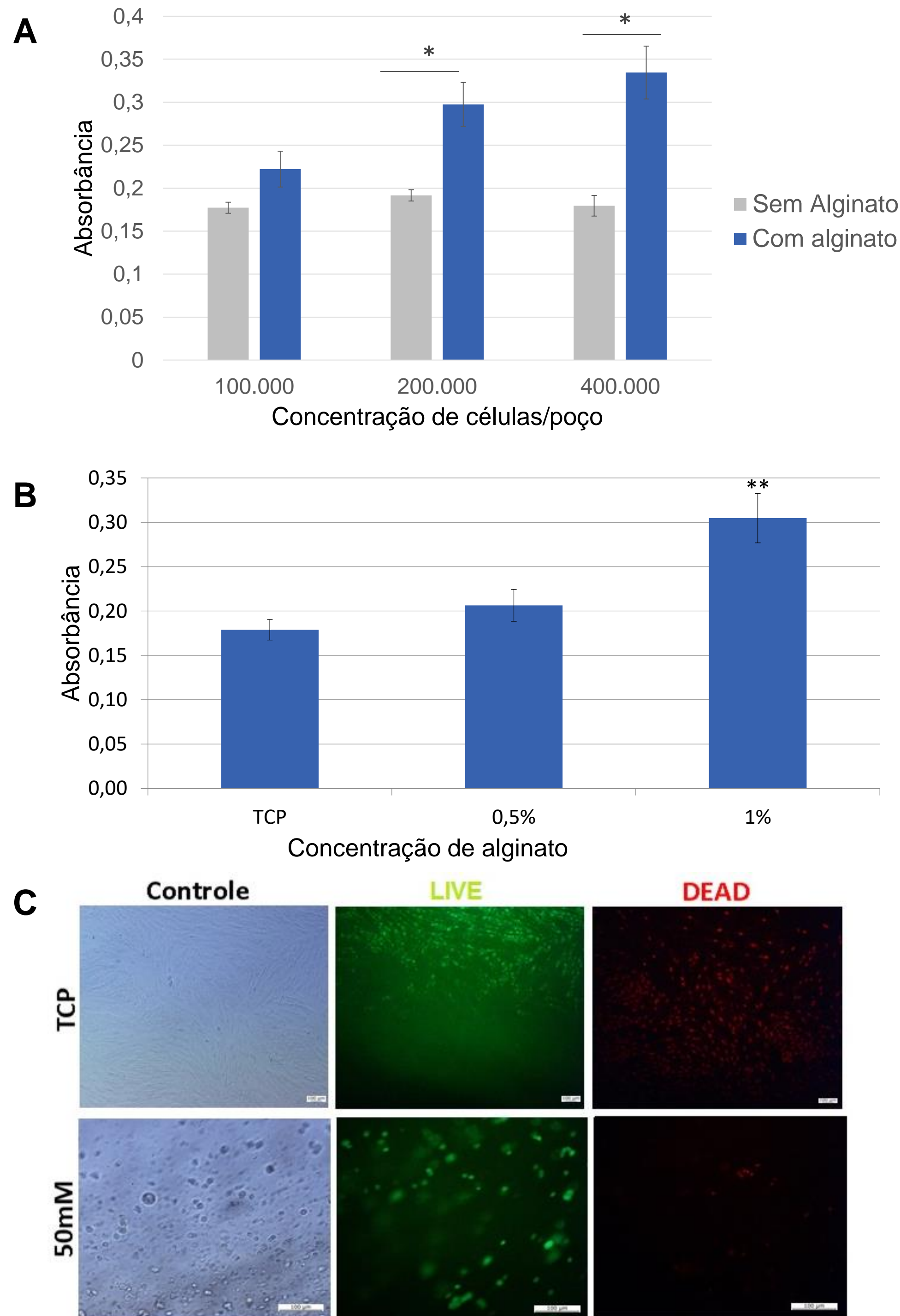


Figura 1: (A) *Scaffolds* foram produzidos com alginato 1%, 50mM de CaCl₂ e 100.000, 200.000 ou 400.000 células e a viabilidade, avaliada por MTT, mostrou-se mais elevada nos *scaffolds* quando comparada ao controle nas maiores concentrações de células. (B) Células encapsuladas em alginato 1% tiveram melhor viabilidade quando comparadas ao encapsulamento com alginato 0,5% e ao controle. (C) Em termos de viabilidade celular, 50mM de CaCl₂ foi a melhor concentração ao reticular o alginato.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos sugerem que o alginato fornece um microambiente tridimensional que parece favorecer a sobrevivência celular, enquanto que a mesma quantidade de células cultivadas na placa de cultura não possui as mesmas condições. Ainda, o biomaterial produzido com 1% de alginato e 50mM de cloreto de cálcio demonstrou os melhores resultados, podendo ser um candidato a mimetizar, tanto quanto possível, uma matriz extracelular natural.