

## INTRODUÇÃO

A tecnologia de encapsulação celular é uma estratégia promissora para controlar, localizar e manter a entrega de produtos terapêuticos *in vivo*, prevenindo o contato celular e a resposta imune. Estudos de nosso grupo verificaram a formação de fibrose em cápsulas de alginato de cálcio quando implantadas em modelo animal. Baseado nisso, este estudo visa comparar a liberação da enzima alfa-L-iduronidase (IDUA) superexpressa por células BHK recombinantes (rBHK) após microencapsulação em alginato de cálcio e macroencapsulação em mPVDF (difluoreto de polivinilideno modificado), a fim de desenvolver um método menos imunogênico de entrega a longo prazo da enzima para posteriormente testá-lo *in vivo*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram comparados 3 grupos quanto à liberação de enzima *in vitro*: células rBHK livres, microencapsuladas em alginato de cálcio (Fig 1A) e encapsuladas em macrocápsulas de mPVDF (Fig 1B). Em cada grupo foram utilizadas  $2 \times 10^5$  células em quintuplicatas.

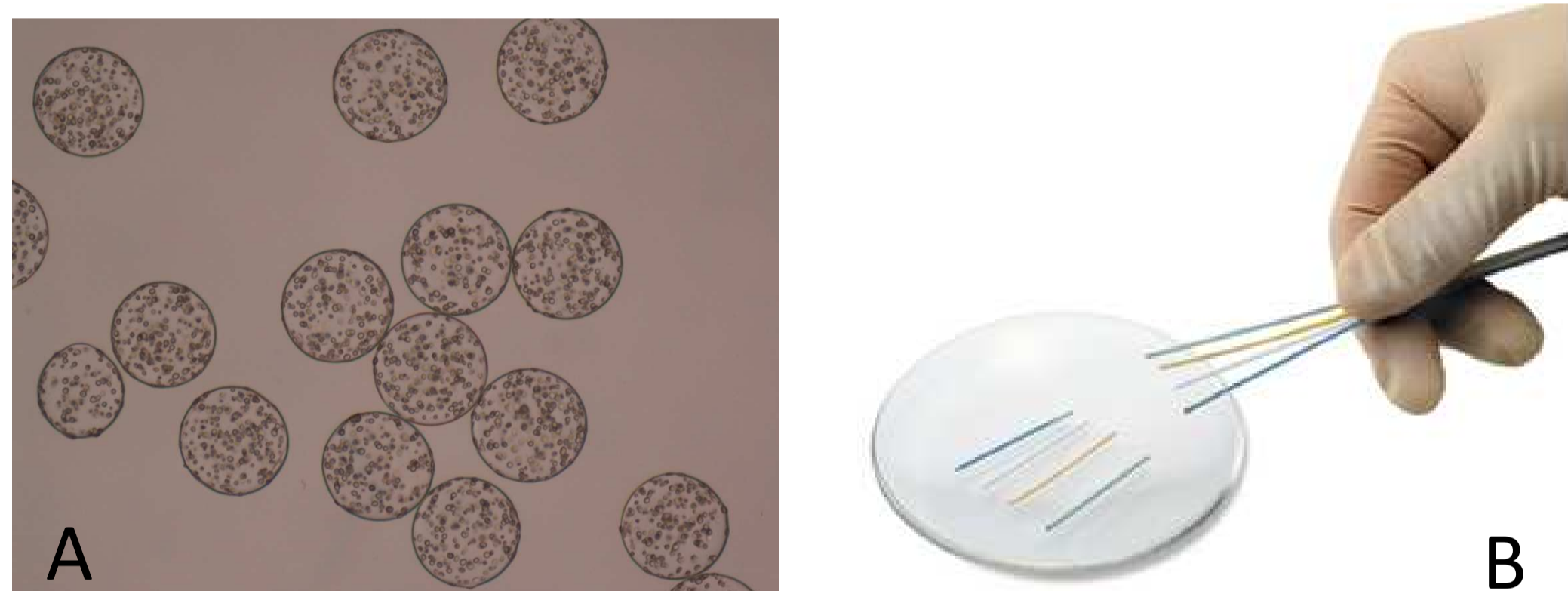


Figura 1: A: Microcápsulas de alginato, B: Macrocápsulas de mPVDF

Para a microencapsulação, as rBHK foram misturadas a uma solução de alginato de sódio 1,5%, essa solução acoplada a uma seringa que por sua vez foi submetida a um fluxo constante de 40mL/h até passar pela unidade de encapsulação que com auxílio de um fluxo de ar faz gotejar a solução em  $\text{CaCl}_2$  provocando a polimerização do alginato (Fig. 2).

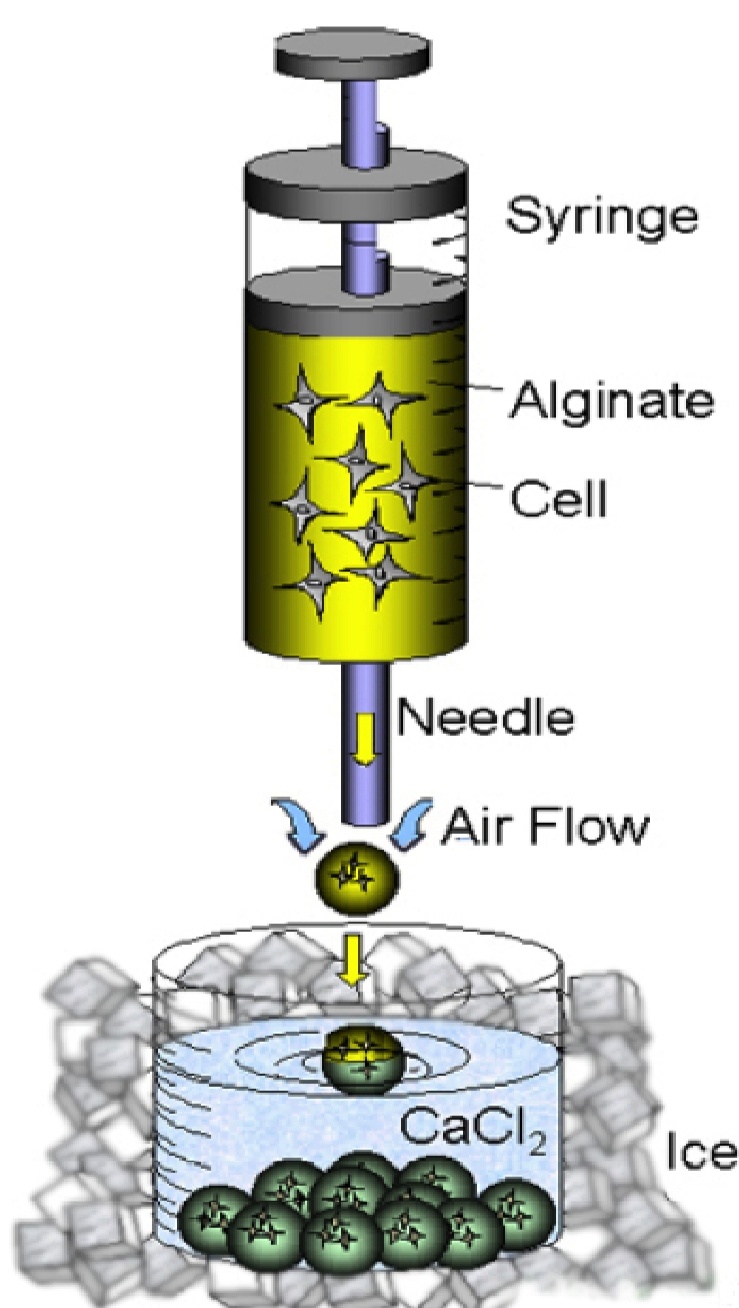


Figura 2: Esquema do sistema de microencapsulação celular em alginato..

Para a macroencapsulação, membranas de mPVDF foram cortadas em pedaços de 1,5 cm e as células foram inseridas por um dos lados. A macrocápsula foi então

selada por calor em ambos os lados. As células foram mantidas em condições padrão de cultivo por 24h.

A fim de observar a proliferação e sobrevivência das células na macrocápsula, as rBHK foram cultivadas nas concentrações de  $2 \times 10^5$ ,  $2 \times 10^6$  e  $2 \times 10^7$  células por macrocápsula durante 7 e 14 dias em condições padrão de cultivo. Ao final do tempo de cultivo, foi medida a atividade de Idua no meio e as macrocápsulas foram abertas, as células coradas com Azul de Tripán para avaliação da viabilidade celular.

## RESULTADOS

Os resultados da liberação da enzima nas células livres, micro e macroencapsuladas, bem como o ensaio de proliferação, encontram-se no gráfico e tabela 1, respectivamente.

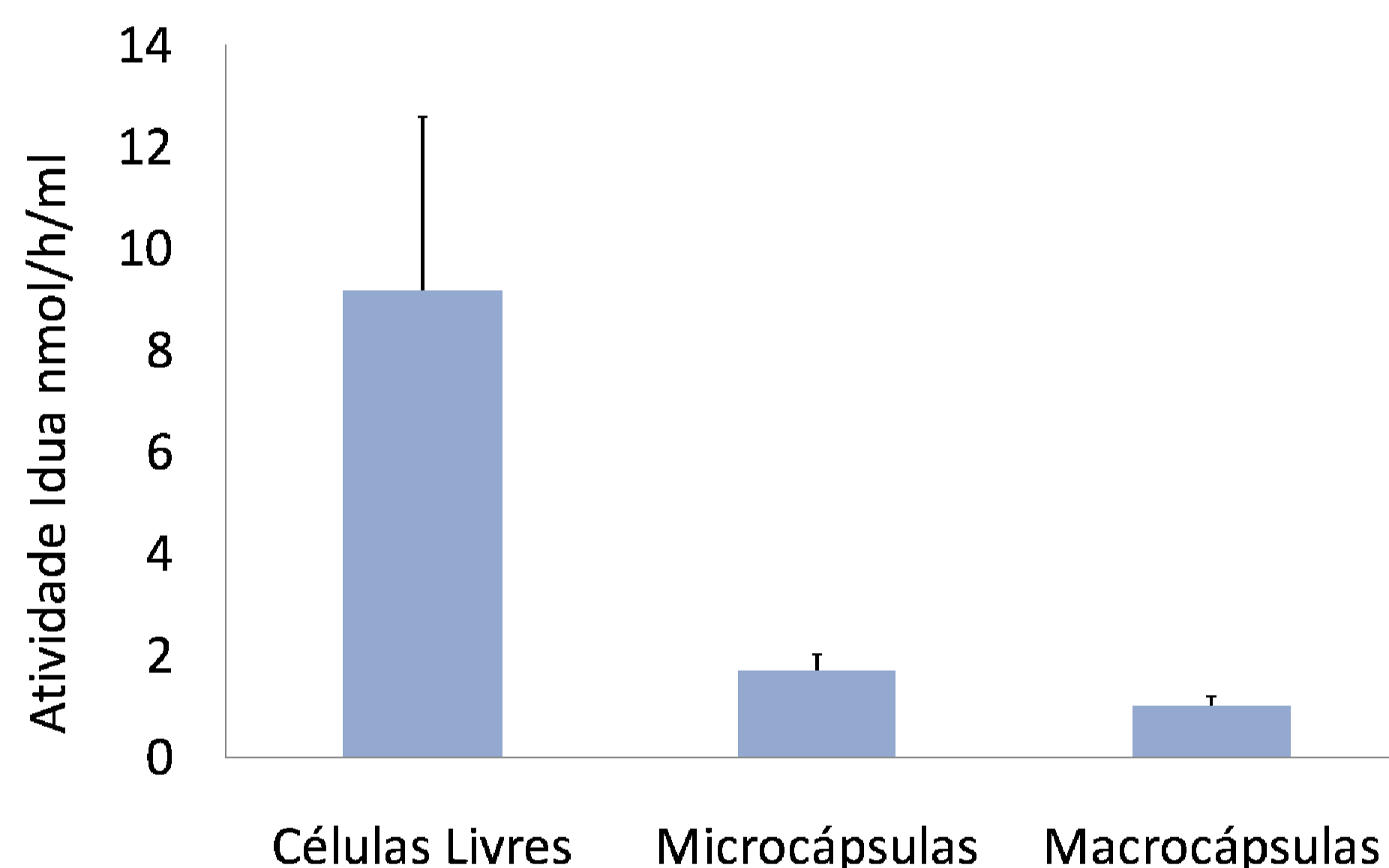


Gráfico 1: A liberação da enzima para o meio extracapsular pelas macrocápsulas foi  $1,02 \pm 0,19$  e pelas microcápsulas foi  $1,71 \pm 0,33$  ( $p=0,824$ ). Comparadas ao controle, cuja atividade foi de  $9,19 \pm 3,41$  a liberação de IDUA pelas células encapsuladas foi cerca de quatro vezes inferior (Anova de uma via e teste post-hoc Tukey,  $p<0,001$ ). As células micro e macroencapsuladas apresentaram viabilidade de 75% e as células livres de 80%.

### Ensaio de Proliferação Macrocápsulas

Tempo	Viabilidade	Atividade Idua (nmol/h/ml)
7 dias		
$2 \times 10^5$	88%	53,38681908
$2 \times 10^6$	80%	4,387153141
$2 \times 10^7$	45%	4,054748558
14 dias		
$2 \times 10^5$	91%	80,60783601
$2 \times 10^6$	95%	70,74362448
$2 \times 10^7$	44%	18,51425614

Tabela 1: Médias da viabilidade e atividade enzimática do ensaio de proliferação.

## CONCLUSÃO

Os parâmetros analisados para as macrocápsulas não se diferenciaram das microcápsulas, o que viabiliza sua utilização para testes *in vivo*, uma vez que as microcápsulas já são usadas em modelo animal. A concentração celular mais apropriada para um teste *in vivo* parece ser de  $2 \times 10^5$  células, já que elas se mantiveram viáveis e com uma boa liberação da enzima por 14 dias.