

Desenvolvimento de condrócitos recém-diferenciados de células tronco de líquido amniótico em polímeros a base de quitosana, alginato e pluronic.

Amanda M. Cruzera (IC), Carolina C. Zuliani (PG), Ana Luiza R. Pires, Angela M. Moraes (PQ), Ibsen B. Coimbra (PQ)

Resumo

Líquido amniótico humano (LAH) possui células tronco mesenquimais (CTM). A combinação de CTM ou condrócitos a scaffolds é promissora no reparo de lesão articular. O objetivo foi avaliar a estabilidade do fenótipo de condrócitos recém-diferenciados de CTM do LAH em polímeros de quitosana, alginato e pluronic. Utilizou-se meio condrogênico com TGF- β 3. A condrogênese foi confirmada, no entanto, não houve aderência ao polímero, provavelmente pela formação de redes de colágenos-glicosaminoglicanos.

Palavras Chave: Líquido amniótico, Condrogênese, Polímero.

Introdução

O líquido amniótico humano (LAH) contém células tronco mesenquimais (CTM), que apresentam potencial condrogênico e podem ser utilizadas no reparo de lesões articulares. CTM ou condrócitos associados a *scaffolds* são uma combinação promissora para recuperação de cartilagem danificada. O objetivo foi avaliar a estabilidade do fenótipo de condrócitos recém-diferenciados a partir de CTMs do LAH por meio de cultura em *micromass* em polímeros constituídos por quitosana complexada com alginato e pluronic e cultivados por mais 21 dias.

Resultados e Discussão

Na citometria de fluxo foram positivos os marcadores CD73, CD90, CD117, SSEA-4, OCT-4, NANOG e negativos os marcadores CD45, CD34 e HLA-DR, caracterizando assim sua pluripotência com características mesenquimais. No PCR em tempo real, foram detectados os genes SOX-9, Agrecano e Colágeno tipo 2 em baixos níveis, esperados para este experimento. Onde a extração de RNA, feita a partir do *micromass*, é menos eficiente em razão dos colágenos glicosaminoglicanos já presentes. A histologia demonstra presença de colágeno e de açúcares no material obtido no *micromass* 21 dias (figura 1), e a não aderência das células ao polímero de quitosana com alginato e pluronic. O mesmo ocorreu num outro polímero de quitosana com xantana e pluronic. No Western Blotting não se observou colágeno tipo 2, o que acredita-se estar relacionado a quantidade de proteínas secretadas no meio ter sido baixa.

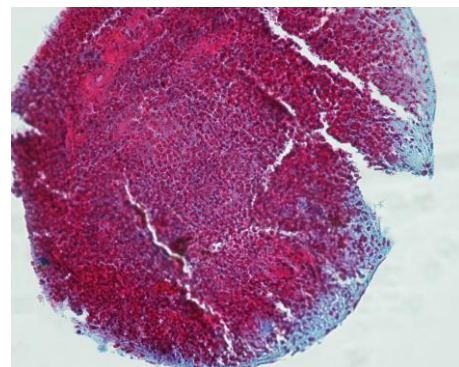


Figura 1. *Micromass*. Coloração: Azul de Alcian 20x

Conclusões

A formação de um “curativo” para lesões condrais não necessita do prévio cultivo das CTMs em *micromass*. Mais estudos cultivando diretamente as CTMs sobre estes biomateriais na presença de meio condrogênico são necessários para elucidar esta hipótese surgida a partir do presente estudo.

Agradecimentos

A todas as gestantes que aceitaram participar do estudo. À Carolina pela paciência em me ensinar, ao Professor Ibsen pela orientação, ao PIBIC pelo suporte e ao CNPQ nº467418/2014-4

D.A. Davydova, E.A. Vorotelyak, Yu.A. Smirnova, R.D. Zinovieva, Yu.A. Romanov, N.V. Kabaeva, V.V. Terskikh, and A.V. Vasiliev. Cell Phenotypes in Human Amniotic Fluid. *Acta Naturae*. 2009 Jul; 1(2): 98–103

²Rodrigo Mardones, Claudio M. Jofré, José J. Minguell. Cell Therapy and Tissue Engineering Approaches for Cartilage Repair and/or Regeneration *International Journal of Stem Cells* Vol. 8, No. 1, 2015