



## Cultura de células condrais e pré-osteoblásticas em biomaterial de gelatina

Dara Giovana Senciani Mendes<sup>1\*</sup>, Felipe Nogueira Ambrosio<sup>2</sup>, Christiane Bertachini Lombello<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Universidade Federal do ABC, São Bernardo do Campo, Brasil

\*[dara.mendes@aluno.ufabc.edu.br](mailto:dara.mendes@aluno.ufabc.edu.br)

**Introdução, Motivação e Objetivos:** A engenharia de tecidos é uma área multidisciplinar de pesquisa e desenvolvimento, cujo objetivo final é a retomada da função tecidual a partir de três elementos fundamentais: células, biomateriais e microambiente. O estudo das propriedades dos biomateriais é essencial para garantir a segurança e a eficácia dos mesmos. Materiais à base de colágeno e gelatina são amplamente utilizados como arcabouço em engenharia de tecidos visando a regeneração de áreas comprometidas por traumas ou patologias. Uma das aplicações propostas para estes biomateriais é a regeneração de tecido cartilaginoso. Neste estudo pretendemos analisar o comportamento de linhagens de células ósseas e de cartilagem em contato com biomaterial de gelatina, originalmente utilizado como agente hemostático.

**Métodos:** Foram realizados dois experimentos utilizando duas linhagens celulares diferentes. As células de linhagem MC3T3 foram cultivadas em meio  $\alpha$ -MEM suplementado com 10 % de SFB e as células de linhagem SW1353 foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de SFB. Ambas as culturas foram mantidas em estufa a 37 °C com 5 % de CO<sub>2</sub>.

Os experimentos consistiram na inoculação de  $5 \times 10^4$  células por amostra de biomaterial a base de colágeno animal hidrolisado, na forma de gelatina (Hemospon<sup>®</sup>) em placas de 12 poços. Como controle, foram utilizadas lamínulas e a condição de controle na própria placa. Foram utilizadas amostras de gelatina de aproximadamente 0,25 cm<sup>3</sup> esterilizadas por radiação  $\gamma$  (IPEN/USP). Os experimentos foram realizados em duplicata.

Para análise de morfologia celular as amostras de células cultivadas em biomaterial foram fixadas em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato. Os períodos de análise foram de 2 horas, 6 horas, 24 horas, 2 dias, 5 dias e 7 dias. Após a fixação, as amostras foram lavadas em água, e desidratadas em série crescente de etanol. A secagem final foi realizada em equipamento de ponto crítico (Leica EM CPD300). Por fim as amostras foram recobertas com ouro em equipamento de sputtering (Leica ACE 200) e observadas em microscópio eletrônico de varredura (FEI Quanta 250).

**Resultados:** De acordo com a análise morfológica realizada por microscopia eletrônica de varredura as células apresentaram boa interação com o biomaterial, sendo o período de cultivo celular e as características individuais de cada linhagem fatores determinantes para o espalhamento das células sobre o biomaterial.

As células da linhagem MC3T3 apresentaram bom espalhamento sobre a gelatina, bem como boa interação célula-célula, aspectos observados a partir de diversos prolongamentos citoplasmáticos (figura 1-D). As células da linhagem SW1353, por sua vez, apresentaram diversos pontos de adesão focal, na forma de lamelipódios, seguindo o padrão de morfologia das células observado nas placas de cultura, demonstrando boa adesão célula-biomaterial e, de forma semelhante às células de linhagem MC3T3, bom espalhamento sobre o biomaterial (figura 2-C).

Em ambas as linhagens foi possível observar também células aderidas à gelatina, porém com estrutura arredondada (figuras 1-E e 2-E). Quanto maior o período de cultivo celular mantido, maior o espalhamento observado (figuras 1-D e 2-D), as células mantem o aspecto característico, que condiz com o esperado e demonstra a viabilidade celular e boa interação das células em contato com o biomaterial. As bordas dos poros da esponja de gelatina parecem favorecer o espalhamento das células (figuras 1-D e 2-C); em contrapartida, no interior dos poros as células se apresentaram de forma mais arredondada (figuras 1-C, 2-A e 2-B). O tamanho do poro também parece influenciar a morfologia adquirida pelas células, de modo que podem servir como um arcabouço de acomodação celular.

**Discussão e Conclusões:** De acordo com a literatura um fator que influencia diretamente o espalhamento celular é a quantidade de células na inoculação (RIBEIRO, 2016). Em estudos realizados por RHEE e GRINNEL (2007), o formato das células em um arcabouço tridimensional permite analisar a viabilidade da aplicação do biomaterial. Enquanto que células de baixa interação com o arcabouço possuem forma arredondada com baixa atividade celular, células com aspecto espalhado estão em alta interação com o arcabouço e exibem alta atividade celular. Analisando o aspecto celular das células nos diversos períodos de cultura foi possível observar que havia presença de células espalhadas sobre boa parte do biomaterial em ambas as linhagens celulares, demonstrando o potencial promissor da esponja de gelatina a base de colágeno animal hidrolisado para aplicações voltadas à reconstrução de tecido ósseo e cartilaginoso.

#### Figuras:

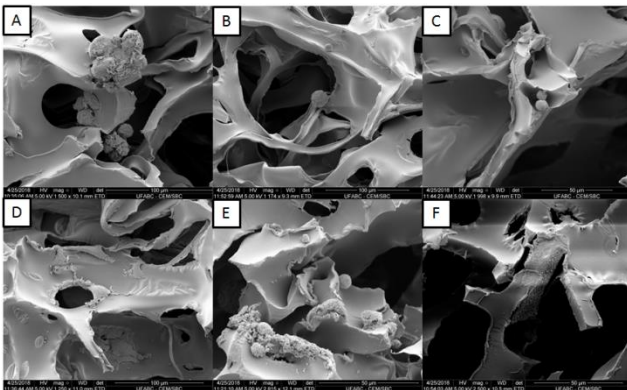


Figura 1: Células MC3T3 sobre gelatina.  
Tempo de cultura: A. 2 hs. B. 6 hs. C. 24 hs. D.  
2 dias. E. 5 dias. F. 7 dias.

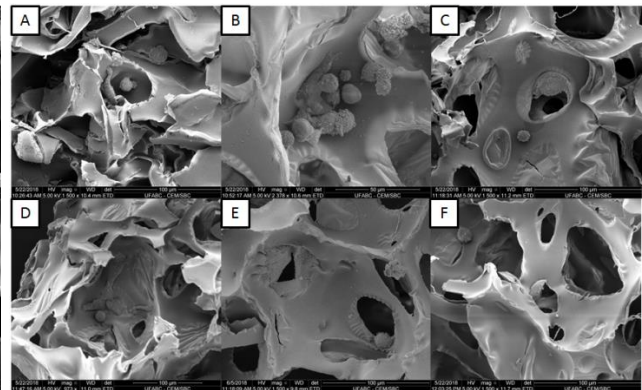


Figura 2: Células SW1353 sobre gelatina.  
Tempo de cultura: A. 2 hs. B. 6 hs. C. 24 hs. D.  
2 dias. E. 5 dias. F. 7 dias.

**Agradecimentos:** Agradecimentos especiais à Universidade Federal do ABC pela disponibilidade da infraestrutura, às Centrais Experimentais Multiusuários da UFABC pelo suporte experimental e às alunas do grupo de pesquisa da professora Christiane Lombello, Débora Carajillascov Ferraraz e Mônica Helena Monteiro do Nascimento.

**Palavras Chave:** Biomaterial; Cartilagem; Morfologia Celular; Proliferação Celular; Tecido Ósseo.