



Artigo Original

Proliferação e diferenciação de células-tronco em contato com eluato de membrana de fibrina

Fernanda Gimenez de Souza^{a,*}, Beatriz Luci Fernandes^a,
Carmen Lucia Kuniyoshi Rebelatto^a, Alessandra Melo de Aguiar^b,
Letícia Fracaro^a e Paulo Roberto Slud Brofman^a

^a Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR), Curitiba, PR, Brasil

^b Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto Carlos Chagas, Curitiba, PR, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 30 de agosto de 2016

Aceito em 28 de outubro de 2016

On-line em xxx

Palavras-chave:

Plasma rico em plaquetas

Membranas

Cartilagem

Regeneração

RESUMO

Objetivo: Avaliar a capacidade do eluato proveniente da membrana de plasma rico em fibrina (PRF) de induzir proliferação e diferenciação das células-tronco humanas isoladas de tecido adiposo (CTDAh) em condrócitos.

Método: As membranas de PRF foram obtidas por centrifugação de sangue periférico de dois indivíduos saudáveis, cortadas, colocadas em poços de placa de cultivo por 48 h para obtenção do eluato de fibrina. As CTDAh foram isoladas do tecido adiposo por digestão com solução de collagenase e expandidas *in vitro*. As células foram expandidas e tratadas com meio de cultivo DMEM-F12, meio comercial para diferenciação condrocítica, e eluato de fibrina durante três dias e marcadas com BrdU para avaliação quantitativa da proliferação celular com o uso do sistema de imagens High-Content Operetta®. Para o ensaio de diferenciação condrogênica, as CTDAh foram cultivadas em micromassa por 21 dias e coradas com azul de toluidina e agrecana para avaliação qualitativa em microscópio óptico. As avaliações estatísticas foram feitas por meio dos testes Anova e Tukey.

Resultados: Houve uma maior proliferação das células tratadas com o eluato de fibrina comparativamente com os outros dois tratamentos, nos quais o teste Anova apontou significância ($p < 0,001$). A diferenciação em condrócitos foi visualizada pela presença de mucopolissacarídeos na matriz das células tratadas com meio de diferenciação ou eluato e marcação positiva para agrecana.

Conclusões: O tratamento com o eluato da membrana de fibrina estimulou a proliferação celular e induziu a diferenciação das células-tronco em condrócitos, o que sugere uma potencial aplicação da membrana de PRF nas terapias de regeneração de cartilagem hialina.

© 2016 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondência.

E-mail: beatriz.fernandes@pucpr.br (F.G. Souza).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbo.2016.10.004>

0102-3616/© 2016 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Proliferation and differentiation of stem cells in contact with eluate from fibrin-rich plasma membrane

A B S T R A C T

Keywords:

Platelet-rich plasma
Membranes
Cartilage
Regeneration

Objective: To evaluate the ability of the eluate from fibrin-rich plasma (FRP) membrane to induce proliferation and differentiation of isolated human adipose-derived stem cells (ASCs) into chondrocytes.

Method: FRP membranes were obtained by centrifugation of peripheral blood from two healthy donors, cut, and maintained in culture plate wells for 48 h to prepare the fibrin eluate. The SCATH were isolated from adipose tissue by collagenase digestion solution, and expanded *in vitro*. Cells were expanded and treated with DMEM-F12 culture, a commercial media for chondrogenic differentiation, and eluate from FRP membrane for three days, and labeled with BrdU for quantitative assessment of cell proliferation using the High-Content Operetta® imaging system. For the chondrogenic differentiation assay, the SCATH were grown in micromass for 21 days and stained with toluidine blue and aggrecan for qualitative evaluation by light microscopy. The statistical analysis was performed using ANOVA and Tukey's test.

Results: There was a greater proliferation of cells treated with the eluate from FRP membrane compared to the other two treatments, where the ANOVA test showed significance ($p < 0.001$). The differentiation into chondrocytes was visualized by mucopolysaccharide expression of the cells marked in blue toluidine and aggrecan.

Conclusions: Treatment with eluate from FRP membrane stimulated cell proliferation and induced differentiation of the stem cells into chondrocytes, suggesting a potential application of FRP membranes in hyaline cartilage regeneration therapies.

© 2016 Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

Dentre as doenças degenerativas que acometem as pessoas idosas, a degradação do tecido cartilaginoso articular, processo conhecido como osteoartrite ou osteartrose (OA), é uma das mais ocorrentes.¹

A funcionalidade da cartilagem depende da integridade da sua matriz extracelular (MEC) e do arranjo de seus componentes moleculares. A susceptibilidade da cartilagem articular à progressão para a OA é devida à sua capacidade limitada de autorregeneração causada pela baixa atividade mitótica dos condrócitos e pela sua natureza avascular.^{2,3}

Em grandes articulações que são submetidas a atrito e que suportam peso, os defeitos na cartilagem não se regeneram espontaneamente e necessitam de intervenção terapêutica. Os tratamentos convencionais disponíveis para reparar defeitos de cartilagens, como as abordagens não cirúrgicas de injeção de glucosamina, esteroides e ácido hialurônico, ou tratamento cirúrgico como o debridamento, apenas aliviam a dor e não restauram a superfície articular.⁴ As técnicas tradicionais são, portanto, paliativas. Lavagem e condroplastia promovem alívio sintomático da dor sem formação de tecido hialino. Essas técnicas removem a camada superficial da cartilagem, o que inclui as fibras de colágeno, que são responsáveis pela resistência mecânica e criam um tecido cartilaginoso com funcionalidade inferior. A técnica de debridamento subcondral ou microfratura tem sido considerada como estimulante para a produção de tecido semelhante ao hialino com propriedades e durabilidade comparáveis à cartilagem

normal. No entanto, tem-se observado que, em muitos casos, ocorre a formação de tecido fibrocartilaginoso que se degenera com o tempo. Transplante osteocondral autólogo e mosaicoplastia (autotransplante de cartilagem) podem restaurar o tecido cartilaginoso, mas suas aplicações são restritas a pequenos defeitos e existem algumas preocupações em relação à morbidade do local doador.⁵ O tratamento da OA e dos defeitos locais da cartilagem articular permanece um desafio. Não existem, atualmente, tratamentos cirúrgicos ou não cirúrgicos que resultem na reparação ou restauração da superfície danificada.

De acordo com o exposto, os métodos de tratamento atuais não fornecem um resultado satisfatório em longo prazo, o que impulsiona investigações em abordagens inovadoras na área da engenharia de tecidos com o uso de biomateriais como arcabouços para a formação de tecido novo.^{6,7} Dentre os biomateriais estão aqueles naturais autólogos, como a membrana de plasma rico em fibrina (PRF). A membrana de fibrina pode ser facilmente isolada do plasma proveniente do sangue periférico do próprio paciente, por centrifugação, quando é formada uma membrana densa de PRF que pode ser prontamente usada depois de exsudada. O PRF exsudado contém quantidade significativa de fatores de crescimento, além de matriz de glicoproteínas, particularmente fibronectina e vitronectina, duas proteínas-chave para permitir o contato célula-matriz extracelular.⁸

A membrana de fibrina, portanto, é um biomaterial natural autólogo rico em glicoproteínas e em fatores de crescimento, de fácil preparação e de baixo custo. Por ser autólogo, não existe risco de infecção ou do desencadeamento de processos

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8598624>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8598624>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)