

TIBI JORNAL INTERDISCIPLINAR DE BIOCIÊNCIAS

Anais do II Simpósio de CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR



AMPARO
À PESQUISA
Fundação de Amparo à Pesquisa
do Estado do Piauí / FAPEPI

Apoio



ISSN: 2448 - 0002

PPGCS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS E SAÚDE



THE CELL 2022



O "II SIMPÓSIO DE CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E MATERIAIS BIOINSPIRADOS" tem como principal objetivo reunir pesquisadores nacionais das áreas de biotecnologia, cultivo de células-tronco, terapia celular e engenharia de materiais para um amplo debate científico sobre as novas perspectivas da medicina regenerativa em modelos animais e o desenvolvimento de matrizes bioinspiradas produzidas em associação com células-tronco e outros tipos celulares, por meio da Bioimpressão 3D. Dessa forma, favorecer a troca de conhecimento entre pesquisadores sobre o tema, para o estabelecimento de futuras parcerias, acordos e pesquisas em animais utilizando células-tronco e materiais bioimpressos com células.

Busca-se também ampliar a interação entre alunos de graduação e pós-graduação no desenvolvimento de pesquisas na área temática, possibilitando melhor qualificação para o engajamento de alunos em programas de pós-graduação, colaborando com o fortalecimento da pesquisa.

Além disso, o evento representa a valorização dos recursos humanos regionais dedicados à pesquisa com células-tronco e biomateriais, capacidade científica que se destaca na UFPI, juntamente com os Programas de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional, em Biotecnologia - RENORBIO e Sciences, por meio dos pesquisadores do Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa em Células-Tronco, do Laboratório de Materiais Bioinspirados e do Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados.

Nota: A revisão dos artigos é de inteira responsabilidade dos organizadores do evento



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI

11, 12 e 13 de novembro de 2022

<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA MEMBRANA DE QUITOSANA

Brenda Lurian do Nascimento Medeiros, (Discente mestrado, Universidade Federal do Piauí), Marcio Leonardo de Moraes Nobre (Discente de Doutorado, Universidade federal do Piauí), Maria José dos Santos Soares, Raizza Eveline Escorcio Pinheiro (Professor, Universidade Federal do Piauí) Dayseanny de Oliveira Bezerra (Orientador, UFPI – Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas em Animais de Interesse Regional)

INTRODUÇÃO

Os biomateriais correspondem a uma fração considerável de todos os produtos utilizados na área da saúde, seja ela humana ou animal. Dentre eles, podem ser citados como exemplos, materiais implantáveis (placas, substitutos ósseos, válvulas cardíacas, lentes, dentes), dispositivos para a liberação de medicamentos (na forma de filmes, implantes subdérmicos e partículas), órgãos artificiais (como pulmões, pele) e curativos, dentre muitos outros (PIRES e MORAES, 2015).

Recentemente, tem-se buscado por materiais que participem de forma ativa no processo de recuperação, atuando no tecido de forma específica, com estímulos a nível celular. Desse modo, o uso dos biopolímeros na medicina regenerativa têm se popularizado, principalmente em tratamento de feridas e com a liberação controlada de fármacos (GOMES et al., 2013).

Nesse sentido, a quitosana e seu uso na produção de biomateriais têm sido foco de diversas pesquisas científicas, de modo que, o uso de polímeros naturais e sua ampla aplicação, contribuem para os avanços na produção desses biomateriais, visto que apresentam diversas vantagens de fácil aplicabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (MORAES et al., 2013).

A atividade antimicrobiana da quitosana é conhecida contra bactérias gram positivas, gram negativas e fungos que incluem alguns de alguns fatores como tipo de micro-organismo, o pH do meio, as características estruturais do polímero (massa molecular e grau de acetilação), a fonte de obtenção da quitosana e a concentração de quitosana (HOSSEINNEJAD e JAFARI, 2016).

Objetivou-se por meio deste estudo analisar a atividade antimicrobiana das membranas de quitosana pura.

METODOLOGIA

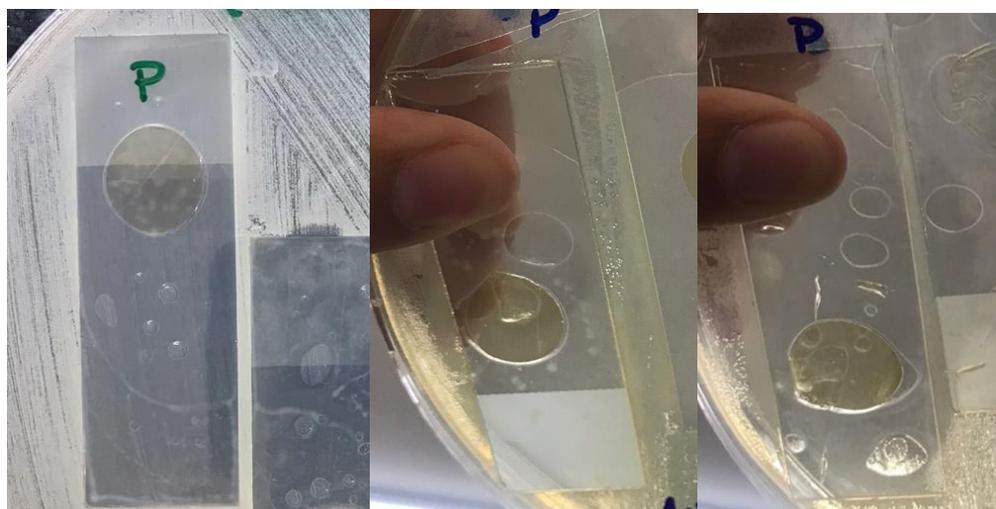
As biomembranas foram produzidas primeiramente pela diluição da quitosana em pó em ácido láctico em agitação por 24 horas seguida da filtração em filtro de nylon e de milipore 0,45µm, vertida em placa de Petri e colocada em estufa a 50°C por 24 horas. Após o processo de 48 horas a membrana que foi vertida foi neutralizada com Hidróxido de sódio a 5% e colocadas para secagem em temperatura ambiente por mais 24 horas, totalizando 72 horas. Para a análise microbiológica das membranas foram utilizados cinco microorganismos sendo três bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli*) e duas leveduras (*Candida albicans* e *Candida glabrata*).

Desse modo, adicionou-se à solução salina 0,09% os microorganismos em soluções individuais até a concentração de 0,5 (escala de MacFarland). Assim foram homogeneizadas em vórtex as soluções de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Escherichia coli* e semeados em placa com ágar Mueller Hinton, enquanto as soluções de *Candida albicans* e *Candida glabrata* foram semeadas em ágar Saboraud. Em capela sob luz ultravioleta, as membranas foram esterilizadas em ambos os lados por 15 minutos cada. Seguida de fixação das membranas cobertas com lâminas de microscopia e evitando o enrugamento da membrana em contato com meio de cultura. As placas foram incubadas por 24 horas em temperatura de 35±2°C para mensuração do halo. Para análise da atividade hemolítica as membranas foram colocadas placas com ágar sangue e incubadas a 35±2°C por 24 horas.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O resultado do experimento mostra que não houve inibição do crescimento das colônias de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas* e *Escherichia coli* muito embora estudos recentes relatam que a quitosana apresenta atividade bactericida contra bactérias G+, como *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, e bactérias G-, como *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* (HOSSEINNEJAD E JAFARI, 2016; SAHARIAH ET AL, 2016; LI ET AL, 2020).

Figura 1: Membrana de quitosana pura fixada com lâmina de microscopia em ágar Muller Higton semeado pelas respectivas bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas* e *Escherichia coli* em placas individuais.



Da mesma maneira que não houve inibição do crescimento bacteriano também não houve inibição de crescimento das *Candida albicans* e *Candida glabrata* conforme as respectivas imagens abaixo, em que é possível visualizar o crescimento abaixo das membranas. Este fato pode ser justificado pela intensidade da degradação da parede celular da levedura ser dependente do pH do meio, do pH da quitosana e de sua concentração (HOSSEINNEJAD e JAFARI, 2016). A sobreposição da lâmina de microscopia sobre a membrana de quitosana, poderá ter influenciado na inibição dos fungos cultivados, como pode ser evidenciado no estudo Dionisio et. al (2019) em que a membrana foi ajustada ao tamanho da lâmina de microscopia e houve importante inibição de *Candida neoformans*.

Figura 2: Membrana de quitosana pura fixada com lâmina de microscopia em ágar Sabouraud semeado pelas respectivas leveduras *Candida albicans* e *Candida glabrata* em placas individuais.



Além dos fatores descritos acima pode se destacar como interferência na atividade fungicida, bactericida e bacteriostática, o grau de acetilação e massa molecular média. Uma vez que, quanto menor o grau de acetilação da quitosana, maior a atividade antibactericida, podendo dessa forma no processo de fabricação da membrana um alto grau de acetilação da membrana (MATIÇA et al, 2019 e MACEDO et al, 2020).

Assim como grau de acetilação, a massa molecular média tem interferência diretamente proporcional a atividade da quitosana, isto é, quanto menor a massa molecular menor sua solubilidade e conseqüentemente menor a atividade antimicrobiana do polímero de quitosana (MACEDO et al, 2020) podendo ser justificada pela baixa massa molecular média da membrana.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos por meio dessa pesquisa inferem que a quitosana pura não inibe o crescimento microbiano, sendo interessante reavaliar os fatores como grau de acetilação, massa

molecular média, uso de lâmina de microscopia sobre a membrana e possibilidade de associar a membrana de quitosana pura à extrato de planta com atividade antimicrobiana comprovada de maneira que potencialize sua atividade.

APOIO

Agradeço ao Programa de Apoio e Pesquisa Estruturação e Reestruturação Laboratorial do INSTITUTO FEDERAL DO PIAUI (PROAGRUPAR/IFPI), em parceria laboratório de microbiologia veterinária da UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI.

REFERENCIAS

Dionisio, N A; Farias, E A O; Marques, T A; Quelemes, P V; Araujo, A R; Fonseca, F M F; Costa, L N; Matos, J M E; Leite, J R S A; Eaton, P; Eiras, C. Layer-by-layer films based on polyaniline, titanate nanotubes, and cetyl trimethyl ammonium bromide for antifungal coatings. **J. Coat. Technol. Res.** v.16, p. 1253-1262, 2019.

Gomes, M.; Azevedo, H.; Malafaya, P.; Silva, S.; Oliveira, J.; Silva, G.; Mano, R. S. J.; Reis, R. *In: EBNESAJJAD, S. **Natural Polymers in Tissue Engineering Applications***. Elsevier: Kidlington, 2013, cap. 16.

GOMES, M.; AZEVEDO, H.; MALAFAYA, P.; SILVA, S.; OLIVEIRA, J.; SILVA, G.; MANO, R. S. J.; REIS, R. Em **Natural Polymers in Tissue Engineering Applications; Ebnesajjad, S., eds.**; Elsevier: Kidlington, 2013, cap. 16.

HOSSEINNEJAD, M.; JAFARI, S. M.; *Int. J. Biol. Macromol.* v. 85, p.467, 2016.

Li, Y.; Chi, Y.-Q.; Yu, C.-H.; Xie, Y.; Xia, M.-Y.; Zhang, C.-L.; Han, X.; Peng, Q.; **Carbohydr. Polym.** v. 241, p 116386, 2020.

MACEDO Juliana B; SANFELICE, Rafaela C; MERCANTEC Luiza A; DOS SANTOS, Danilo Martin; HABITZREUTERE Filipe; CAMPANA-FILHO Sérgio Paulo; PAVINATTOA, Adriana. Atividade antimicrobiana de quitosanas e seus derivados: influência das características. **Quim. Nova**, v.45, n. 6, p. 690-704, 2022.

MATICA, M. A.; AACHMANN, F. L.; TONDERVIK, A.; SLETTA, H.; OSTAFE, V.; *Int. J. Mol. Sci.* v. 20, n1, 2019.

PIRES, Ana Luiza R.; BIERHALZ, Andréa CK; MORAES, Ângela M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química nova**, v. 38, p. 957-971, 2015.

SAHARIAH, P.; HJÁLMARSDÓTTIR, M. Á.; MÁSSON, M. IN MARINE GLYCOBIOLOGY; KIM, S.-K. **Press: Boca Raton**. p. 345, 2016.

ANÁLISE DE RISCO DE PACIENTES COM LEUCEMIAS: CONTRIBUIÇÕES AO ESTUDO DO PROGNÓSTICO ONCOLÓGICO

Igor Vitor Oliveira da Graça¹; Ian Jhemes Oliveira Sousa²

Introdução

As leucemias são um grupo de doenças que compartilham uma patogenia proliferativa em comum e por ocorrerem dentro dos leitos vasculares. Elas, embora não sejam tradicionalmente consideradas como doenças metastáticas, são, na verdade, modelos de disseminação metastática altamente eficientes. Assim, muitas vezes são doenças agressivas e desafiadoras para tratar (WHITELEY *et al.*, 2021).

Normalmente, a leucemia pode ser de linhagens mieloide ou linfoide e ela é classificada como de natureza aguda ou crônica; as leucemias agudas, em especial, ocorrem em células hematogênitas pouco diferenciadas e comumente ocorrem em pacientes de todas as idades, sendo potencialmente fatais rapidamente se não forem prontamente tratadas (AN; FAN; XU, 2017).

No contexto do mau prognóstico desse conjunto de doenças, ressalta-se a importância do estudo das particularidades que afetam o prognóstico do paciente para o estadiamento e tratamento das leucemias (JULIUSSON; HOUGH, 2016).

Neste contexto, este trabalho objetiva avaliar os fatores que possam se relacionar a internações e óbitos de leucemias dentro da rede pública de saúde brasileira através de um estudo documental retrospectivo.

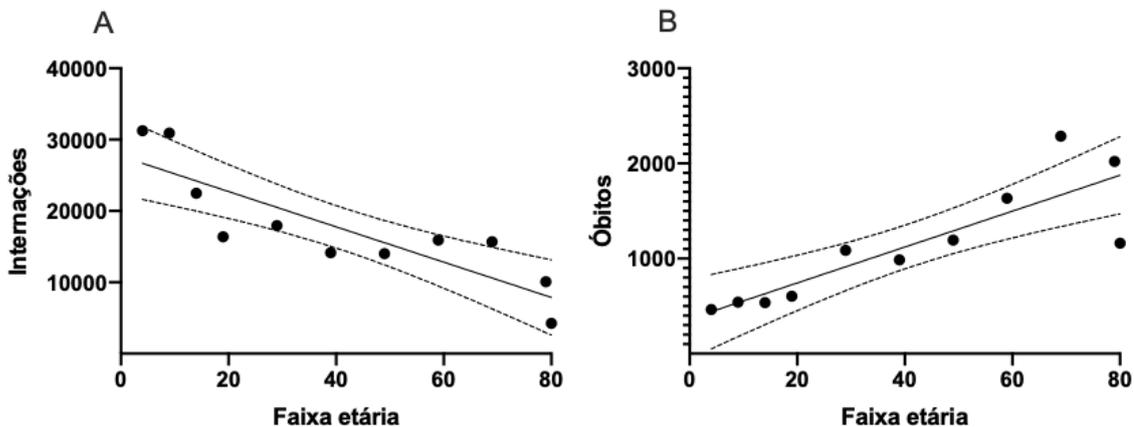
Metodologia

Trata-se de um estudo retrospectivo de abordagem analítica, executado nos dados acessados via lei de acesso à informação (Lei nº 12.527, sancionada em 18 de novembro de 2011). Os dados foram obtidos dos registros oficiais de hospitalizações decorrentes de Leucemias no último quinquênio (agosto de 2017 a agosto de 2022). Os dados foram tratados pelo software Gaph Pad Prism (*GaphPad Software for Science, San Diego CA*). Segundo coeficiente de Person e Análise de Odds Ratio.

Resultados e Discussão

Os dados obtidos mostram correlações de Person com alto poder associativo que descrevem o comportamento de influência etária em novos casos e óbitos decorrentes desse conjunto de doenças, conforme pode-se observar na Figura 1.

Figura 1 – Análise das relações etárias com novas internações e óbitos

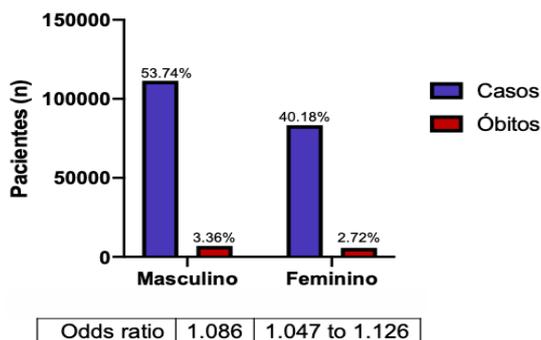


Legenda: Os dados estão expressos como soma dos casos de todas as regiões brasileiras. As curvas projetadas levam em consideração a range de dados em consonância com o teste de correlação de Person, significâncias foram consideradas para $p < 0,05$. Fonte: Autoria própria.

A análise de internações no último quinquênio mostra que existe uma tendência a correlação negativa, ($r^2 = -0,8589$) mostrando que um maior número de casos de leucemias acomete pessoas mais jovens ($p < 0,001$) (crianças entre 1 a 4 anos compõe a faixa etária mais expressiva), o conjunto de faixas etárias de 1 a 12 anos responde por 44,34% dos casos. Os achados são corroborados com o estudo de Brayley *et al.*, (2019), que aponta que a leucemia é o câncer mais comum em crianças com manifestações amplas, desde uma criança relativamente bem até complicações com risco de vida. Em relação aos óbitos, a correlação de person é positiva ($r^2 = 0,8566$), mostrando que existe uma correlação positiva forte entre óbitos e idade ($p > 0,001$). Neste contexto, 56,33% dos óbitos são de pacientes de idade a partir dos 50 anos, mesmo esta faixa etária correspondendo apenas 23,58% dos casos.

Na análise de Odds Ratio entre sexo, os dados são exibidos na figura 1 abaixo.

Figura 1 – Análise de risco de óbitos de decorrentes de leucemia versus sexo.



Legenda: os dados estão expressos como o número absoluto de pacientes no eixo y do gráfico seguidos por percentil de total de pacientes internados e óbitos relativizados, o Odds ratio foi calculado considerando $p < 0,05$. Fonte: Autoria própria.

Os dados mostram que o sexo masculino tem um discreto, porém significativo maior risco de óbito por leucemias, o risco varia de 1,086 (1,047 a 1,126) vezes maior para o homem em relação a mulher, considerando $p < 0,05$.

Estes achados são de forma similar corroborados estudos que mostram uma que os homens tendem a possuir expressivamente maiores riscos de vários tipos de cânceres que podem estar associados a sua atividade laboral (MORAES *et al.*, 2017).

Conclusão

Os dados permitem concluir que existem perfis particulares que predispõe um mau prognóstico relacionado ao aumento da idade, mesmo apesar de a maioria dos casos ocorrerem em mais jovens, além disso vale mencionar que o risco de óbito discretamente maior no sexo masculino também é um achado a ser levado em consideração. Portanto, no que concerne a abordagem e estadiamento prognóstico cabe ao médico interpretar essas possibilidades para humanizar o atendimento durante a terapia oncológica.

Referências

AN, Q; FAN, C-H; XU, S-M. Recent perspectives of pediatric leukemia - an update. **European review for medical and pharmacological sciences**, vol. 21, no. 4 Suppl, p. 31–36, Oct. 2017. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29165768>.

BRAYLEY, Jessica; STANTON, Lauren Katie; JENNER, Lucy; PAUL, Siba Prosad. Recognition and management of leukaemia in children. **British journal of nursing (Mark Allen Publishing)**, vol. 28, no. 15, p. 985–992, 8 Aug. 2019. DOI 10.12968/bjon.2019.28.15.985. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31393775>.

JULIUSSON, Gunnar; HOUGH, Rachael. Leukemia. **Tumors in Adolescents and Young Adults: Specific Illnesses (Leukemia)**. [S. l.: s. n.], 2016. p. 87–100. DOI 10.1159/000447076. Available at: <https://www.karger.com/Article/FullText/447076>.

MORAES, Elisane Silveira; MELLO, Marcia Sarpa de Campos; NOGUEIRA, Fernanda de Albuquerque Melo; OTERO, Ubirani Barros; CARVALHO, Flávia Nascimento de. Análise de indivíduos com leucemia: limitações do sistema de vigilância de câncer. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 22, no. 10, p. 3321–3332, Oct. 2017. DOI 10.1590/1413-812320172210.18292017. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232017021003321&lng=pt&tlng=pt.

WHITELEY, Andrew E.; PRICE, Trevor T.; CANTELLI, Gaia; SIPKINS, Dorothy A. Leukaemia: a model metastatic disease. **Nature Reviews Cancer**, vol. 21, no. 7, p. 461–475, 5 Jul. 2021. DOI 10.1038/s41568-021-00355-z. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8722462>.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

AValiação DO POTENCIAL PROTETOR DO NITRATO, L- VALINA E BIOTINA
NA CITOTOXIDADE DA CISPLATINA EM MODELO DE CULTIVO CELULAR.

João Victor Silva Araújo (Discente pós-graduação - Doutorado, UFPI¹), Alexandra de Siqueira Cajado Liarte (Discente pós-graduação - Mestrado, UFPI¹), Airton Mendes Conde Júnior (Orientador, Programa de Pós-graduação, UFPI¹)

Introdução:

A cisplatina é uma droga citotóxica que danifica o DNA, inibindo a mitose e desencadeando a morte celular (RAUDENSKA et al., 2019). O uso clínico da cisplatina é limitado em decorrência dos seus efeitos colaterais graves e dependentes da dose. Os efeitos colaterais mais comuns incluem nefrotoxicidade, neurotoxicidade, toxicidade gastrointestinal, toxicidade hematológica, cardiotoxicidade e hepatotoxicidade. Dessa forma, existe uma busca por substâncias naturais com propriedades anticancerígenas ou capazes de combinadas com quimioterápicos, amenizar esses efeitos danosos (WRÓBLEWSKA-ŁUCZKA et al., 2021).

Diferentes tipos de nutracêuticos estão sendo estudados para auxiliar nas terapias de várias doenças neoplásicas, como a curcumina (ABADI et al., 2022), vitamina C (GHAVAMI G. & SARDARI S. 2020), L-Serina (MONROE et al., 2021), e outros. O modelo de estudo empregando cultivo celular é utilizado para identificar novos fármacos quimioterápicos, suas associações e novas terapias com substâncias amenizadoras dos efeitos colaterais provocados por quimioterápicos. Visto isso, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito modulador de diferentes nutracêuticos na citotoxicidade da cisplatina em sistema de cultivo celular.

Metodologia

Foi utilizado o fármaco Citoplax® (Bergamo LTDA, Santo Amaro, SP – Brasil), que tem como princípio ativo a cisplatina na concentração de 1mg/ml. Foram investigados a interação do fármaco com 3 diferentes tipos de nutracêuticos: L-Valina (Êxodo científica, Sumaré, SP – Brasil); Biotina e Nitrato (Merck®). Todos os produtos foram armazenados em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Os nutracêuticos foram solubilizados no momento do experimento, enquanto o Citoplax® foi utilizado em até 14 dias após preparo.

Culturas de fibroblastos da linhagem L929 (ATCC CCL-1) foram mantidas em estufa 37°C, 5% CO₂ em garrafas de 25 cm² contendo meio RPMI-1640 (INLAB Diagnóstica), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2mM de GlutaMAX (Gibco™). As culturas foram mantidas até que as células atingissem confluência de 80%, com trocas de meio a cada 2 dias. As células foram tratadas com

¹ Programa de Pós-graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional – Universidade Federal do Piauí.

Tripsina 0,25% (Gibco™); contadas e dispersadas em meio para repique, congelamento ou semeio de placas para experimentação.

Avaliação da citotoxicidade e determinação do IC50

Células L929 foram semeadas em placas de 96 poços na quantidade de 4×10^3 células/poço em 160µL de meio, incubadas a 37°C por 24 a 72 horas. Concentrações de cisplatina foram adicionadas aos poços, sempre no volume de 20µL e novamente incubadas a 37°C por 48 horas. Após a interação do fármaco com a cultura, 20µL de alamarBlue™ foi adicionado a cada poço (10% concentração final) e reincubadas a 37°C por 8 a 12 horas. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro (LMR FLEX UV-VIS i – Loccus®, Cotia, SP – Brasil) nos comprimentos de onda de 570 e 630 nm. Como controles do experimento foram utilizados o meio de cultura (branco), meio de cultura com alamarBlue™ (estado oxidado) e cultura com alamarBlue™ sem fármaco (crescimento máximo).

Interação Fármaco – Nutracêuticos – Células

Os ensaios foram realizados de forma similar aos de determinação do IC50. Uma única concentração correspondente ao IC50 (3,0µg/ml) e diferentes nutracêuticos diluídos em meio na concentração de 5µg/mL (concentração final no poço: 0,5µg/mL). Também foram adicionados os controles: cultura e fármaco (IC50) sem nutracêutico, cultura e nutracêutico sem fármaco.

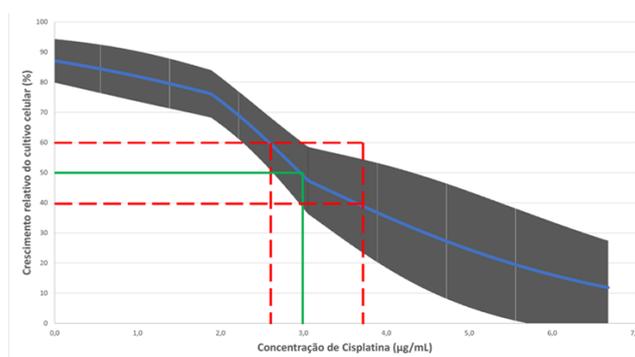
Análise estatística

Todas as variáveis de teste e controle foram avaliadas nas culturas em triplicatas ou hexaplicatas. Foi realizada uma análise de variância, sendo adotado por conveniência o limite de 10% de coeficiente de variância (CV) entre as réplicas. As curvas de viabilidade celular e o valor do IC50 foram determinados a partir da porcentagem de redução do alamarBlue™ em relação ao controle de células cultivadas sem o fármaco. Foi utilizado um modelo de regressão sigmoidal conhecido como “dose-resposta” disponível no programa Microcal™ Origin™, versão 5.0 (Microcal software Inc, Northampton, MA, EUA).

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que o valor médio de IC50 calculado foi de 3,0µg/mL (aproximadamente 10 µM), da mesma forma, a concentração média de 3,0µg/mL calculada corresponde à concentração inibitória do crescimento entre 40% e 60% da cultura de células.

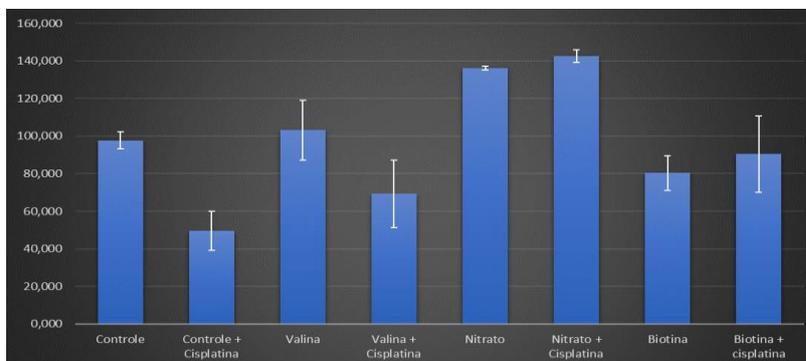
Figura 1: Curva de crescimento do cultivo celular em função da concentração de cisplatina.



A Figura 2 representa o efeito dos nutracêuticos sobre as culturas de células sem e com fármaco. pode-se observar que, considerando o desvio padrão dos resultados, as células suplementadas com valina apresentaram crescimento similar à cultura controle não suplementada com nutracêuticos. Entretanto, aquelas suplementadas com biotina apresentaram crescimento abaixo e com

nitrito apresentaram crescimento acima do observado nas culturas controle. Quando comparado ao grupo que receberam o nutracêutico e fármaco, observa-se que nitrito e biotina apresentaram crescimento significativo em relação ao controle contendo o fármaco, porém sem suplementação com nutracêuticos.

Figura 02. Percentual de Crescimento das culturas sem e com cisplatina (3µg/mL)



Conclusão

Conclui-se que os nutracêuticos estudados apresentaram capacidade de modular o crescimento celular na presença de cisplatina, porém a biotina demonstrou essa capacidade especificamente na presença, representando um potencial alvo para novos estudos.

Referências

ABADI, A. J. et al. Curcumin and its derivatives in cancer therapy: Potentiating antitumor activity of cisplatin and reducing side effects. **Review Phytother Res**, v.36, n.1, p.189-213. 2022.

GHAVAMI, G.; SARDARI, S. Synergistic Effect of Vitamin C with Cisplatin for Inhibiting Proliferation of Gastric Cancer Cells. **Iran Biomed J**. Mar, v.24, p.119-27. 2020.

MONROE, J. D. et al. Effects of L-Serine Against Cisplatin-Mediated Reactive Oxygen Species Generation in Zebrafish Vestibular Tissue Culture and HEI-OC1 Auditory Hybridoma Cells. **Neurotox Res**. V.39, n.1, p.36-41. 2021.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

AVALIAÇÃO DO USO DO POLISSACARÍDEO ISOLADO DA *Amburana cearensis* NA SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE OURO

Eziel C. da Silva (Discente do Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, UFPI), Iranildo C. Araújo (Discente do Programa de Pós-graduação da Rede RENORBIO, UFPI), José Regilmar T. da Silva (Colaborador, IFPI), Geanderson E. de Almeida (Discente do curso de Engenharia de Materiais, UFPI), Felipe Barbosa Marques (Discente do Curso de Química, UFPI), Carla Eiras (Programa de Pós-graduação da Rede RENORBIO, UFPI) e Lívio César C. Nunes (Orientador, Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, UFPI)

Introdução

Atualmente as nanopartículas de ouro (AuNp) apresentam um considerável destaque no que se refere às aplicações em áreas biológicas e, principalmente médicas, tais como (bios)sensores, entrega controlada de drogas ou ainda na construção de novos modelos moleculares, as quais referem-se às suas propriedades físicas e químicas exclusivamente dependentes de suas forma e tamanho. Diferentes substâncias podem ser incorporadas ou empregadas na modificação da superfície das AuNPs atribuindo a estas, maiores especificidade e aumentando ainda mais sua gama de aplicações (CHIANG E NICOL, 2022, CHÁVEZ SANDOVAL, et a. 2021).

Substâncias naturais capazes de reduzir e estabilizar nanopartículas de ouro, são promissoras às aplicações biomédicas, quando estas também apresentam baixa ou nenhuma toxicidade. Neste estudo, é sugerida uma rota síntese para as AuNPs as quais serão reduzidas e estabilizadas pelo polissacarídeo isolado do exsudato vegetal da *Amburana cearensis* (GAmb), sendo apresentadas a caracterização das suspensões coloidais obtidas (UV-Vis, DLS), a caracterização química e estrutural do biopolímero isolado (FT-IR, RMN ¹³C e ¹H) bem como o ensaio hemolítico a fim de avaliar a biocompatibilidade da matriz polissacarídica.

Metodologia

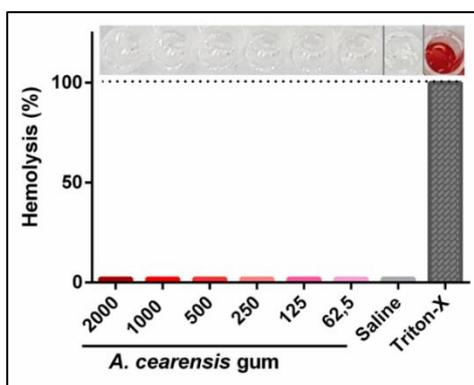
O polissacarídeo isolado a partir da metodologia proposta por Costa, Rodrigues e De Paula (1996), com adaptação para o meio alcalino (pH 10), foi caracterizado por FT-IR usando equipamento da Perkin-Elmer, FT-IR Spectrum 1000, onde as medidas foram realizadas em á partir de pastilhas de KBr com grau de pureza analítico (P.A), enquanto a caracterização espectroscópica foi realizada por ressonância magnética nuclear (RMN) empregando um espectrômetro Bruker Avance DRX 500 a 70

°C. O ensaio de atividade hemolítica da GAMB foi realizado com eritrócitos humanos segundo Quelemes, et al. (2017). As sínteses das nanopartículas de ouro foram preparadas a partir do método de Turkevich descrito por Melo Jr. e colaboradores (2012). As suspensões coloidais obtidas foram nomeadas de AuNPs/Cit, AuNPs/GAmb e AuNPs/GAmb₁₀ (pH 10). A caracterização das nanopartículas foi realizada pelas técnicas de espectroscopia no UV-Vis e Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).

Resultados e Discussão

A partir dos espectros de FT-IR foram registrados os picos característicos de um polissacarídeo, como por exemplo, em 1035 cm⁻¹ (C-O), 1050 cm⁻¹ (C-O-C) e 1075 cm⁻¹ (carbonos anoméricos). Já a partir da ressonância magnética nuclear de ¹³C e ¹H foram observados os deslocamentos químicos em 106,0 e 112,0 δ (ppm) e atribuídos aos carbonos anoméricos (C1) das unidades β-D-galactopiranosose e α-L-arabinofuranose respectivamente. A partir destes resultados inferiu-se que o polissacarídeo isolado da *Amburana* pertence à classe das arabinogalactanas do tipo 2, por apresentar em sua cadeia principal, unidades de β-D-galactopiranosose (1→3,6) ligadas e ramificações laterais com terminais não redutoras de α-L-arabinofuranose (1→3,5) ligadas (CARPITA, GIBEAUT, 1993). Quanto ao ensaio de hemólise da GAMB isolada, este mostrou boa biocompatibilidade até mesmo na máxima concentração empregada do polissacarídeo em estudo (≤ 2.000 µg/mL), pois não promoveu hemólise em eritrócitos humanos (modelo celular estudado) (Figura 1).

Figura 1. Ensaio hemolítico para biocompatibilidade da GAMB.

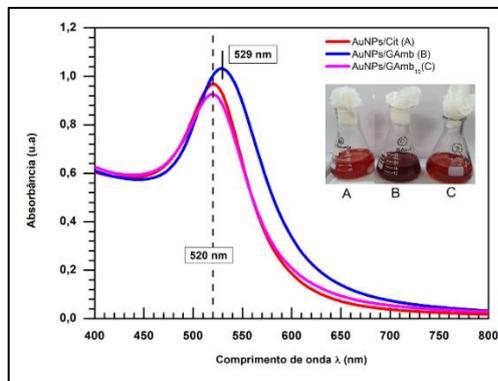


Fonte: Autores

No que se refere as AuNPs, estas foram caracterizadas por espectroscopia no UV-Vis (Figura 1) e Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS). Os resultados para a suspensão coloidal de AuNPs/Cit mostraram a absorção máxima em 520 nm enquanto o tamanho médio de partículas foi de 27 nm e o potencial Zeta (PZ) de -47 mV. Já as sínteses onde a GAMB foi empregada como agente redutor e estabilizante das AuNPs o tamanho das AuNPs/GAMB foi elevado para 72 nm, enquanto a absorção máxima no UV-Vis foi de 529 nm. No entanto, a síntese das AuNPs realizada em meio alcalino (pH 10), AuNPs/GAmb₁₀, apresentaram uma redução de tamanho (57 nm) quando comparadas às AuNPs/GAmb e absorção máxima de 520 nm no UV-Vis, assim como as AuNPs/Cit. Possivelmente, a quebra das cadeias do polissacarídeo, em estruturas menores, favorecida pela hidrólise alcalina e elevadas temperaturas da síntese causou uma maior disponibilidade dos grupos funcionais ao sistema AuNPs/GAmb₁₀ proporcionando uma redução no tamanho das nanopartículas e uma maior

estabilidade, confirmadas por seus elevados valores em módulo dos potenciais Zeta: AuNPs/GAmb (28 mV) e AuNPs/GAmb₁₀ (38 mV).

Figura 01: Espectros de UV-Visível das AuNPs



Conclusão

A GAMB um arabinogalactano do tipo 2, demonstrou boa biocompatibilidade com o modelo celular estudado apresentando-se atóxica, resultados estes melhores que a goma do cajueiro. Já nas sínteses das nanopartículas de ouro, a GAMB mostrou-se capaz de atuar tanto como agente redutor e estabilizante, isso devido a presença de grupos funcionais redutores presentes na estrutura do polissacarídeo. Diante das características apresentadas pela goma da *Amburana cearensis*, pode-se inferir que a mesma tem potencial para aplicações na medicina.

Apoio

BIOTEC-UFDPAR, MATSENS-UFPI, UFC, UFPI, CNPq

Referências

CARPITA, N. C.; GIBEAUT, D. M. **Plant Journal**, v. 3, p. 1-30, 1993.

COSTA, Sônia M. O.; RODRIGUES, Judith F.; DE PAULA, Regina C. M. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. Abr/Jun, 1996.

MELO Jr, M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. D. C.; NOGUEIRA, A. F. **Química nova** v. 35, p. 1872-1878, 2012.

QUELEMES, P. V., DE ARAÚJO, A. R., PLÁCIDO, A., DELERUE-MATOS, C., MACIEL, J. S., BESSA, L. J., ... & LEITE, J. R. S. **Carbohydrate polymers**, v. 157, p. 567-575, 2017.

CHIANG, Ming-Chang; NICOL, Christopher JB. **Free Radical Biology and Medicine**, 2022.

CHÁVEZ SANDOVAL, B. E., FLORES-MENDOZA, N., CHÁVEZ-RECIO, A., BALDERAS-LÓPEZ, J. A., & GARCÍA-FRANCO, F. **Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología**, v. 14, n. 27, 2021.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

AVANÇOS DA BIOIMPRESSÃO 3D PARA A MEDICINA REGENERATIVA

André Cardoso Tavares (Discente de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden¹), Francisca Kaline Ferreira Pereira (Discente de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden) Beatriz Lemos da Silva Loureiro (Discente de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden, Evelle Rodrigues Sousa (Discente de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden), Francisca Louenny Alves Cardoso (Biomédica, Universidade Federal do Piauí)

INTRODUÇÃO

Casos crescentes de escassez de órgãos e de doadores em todo o mundo são lembretes alarmantes da necessidade de alternativas aos tecidos de aloenxerto. Nas últimas três décadas, os esforços de pesquisa no campo da medicina regenerativa e engenharia de tecidos continuam a abordar a necessidade não atendida de tecidos e órgãos artificiais para transplante. O trabalho no campo evoluiu para criar o que consideramos um novo campo, a Engenharia Regenerativa, definida como a convergência da ciência de materiais avançados, ciência de células-tronco, física, biologia do desenvolvimento e tradução clínica para a regeneração de tecidos e sistemas de órgãos complexos (MATAÍ et al., 2020).

Diferentes células e biomateriais podem ser bioimpressos em produtos para medicina regenerativa e engenharia de tecidos. A bioimpressão (*bioimprinting*) pode ser definida como a utilização de células e outros produtos biológicos na impressão por empilhamento para a montagem de tecidos e órgãos a partir da deposição de camadas auxiliada por computador, podendo ser utilizada na medicina regenerativa, em estudos farmacocinéticos bem como em outros estudos biológicos. Essa recente tecnologia pode ser classificada de acordo com o seu princípio de funcionamento sendo: bioimpressão baseada em um jato de tinta, de extrusão e a impressão em laser. As vantagens incluem controle preciso da distribuição de células, deposição de células de alta resolução, escalabilidade e custo-benefício. Por essas razões, o desenvolvimento e as aplicações subsequentes da bioimpressão aumentaram muito nos últimos cinco anos (SANTOS, MAZZEO, 2021).

A medicina regenerativa e a engenharia de tecidos têm oferecido oportunidades para resolver este problema. Existe uma necessidade de equilíbrio entre a recuperação estrutural do tecido ou órgão

¹ Graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden

versus a recuperação funcional, além de desafios no processo de desenvolvimento de tecidos funcionais complexos, como o sistema de vascularização, necessário para que o processo de crescimento tecidual se desenvolva. No entanto, a maior limitação para o uso da terapia utilizando-se a impressora de células, órgãos e tecidos em 3D é a falta de protocolos unificados com metodologias reprodutíveis e detalhadas; com o objetivo de viabilizar a utilização da impressora e a impressão de células, órgãos e tecidos em 3D (CUI et al., 2017).

DESENVOLVIMENTO

A engenharia de tecidos surgiu como uma solução promissora para a demanda não atendida de tecidos e órgãos para medicina regenerativa e pesquisa farmacêutica (ZHANG et al., 2016). Acredita-se que a bioimpressão 3D oferece versatilidade e capacidade sem precedentes para fornecer células e biomateriais com controle preciso sobre distribuições espaciais. Como resultado, é possível recriar construções projetadas com recursos precisos, detalhados ou até personalizados que imitam a forma, estrutura, arquitetura e, portanto, a função de direcionar tecidos e órgão (MUTREJA et al., 2015).

Bioimpressão tridimensional (3D) pode ser definida como uma metodologia de amplo potencial na engenharia de tecidos, a qual visa à rápida e precisa construção de estruturas tridimensionais vivas e funcionais, por meio da sobreposição, em camadas de células vivas, andaimes (*scaffolds*) compostos de biomateriais e moléculas seguindo um padrão pré-determinado. A microestrutura formada tende a apresentar uma heterogeneidade tecidual apropriada, no que se refere à distribuição celular, propriedades bioquímicas e biofísicas, o que favorecem os processos celulares de proliferação, migração e produção das proteínas da matriz extracelular (SANTOS, MAZZEO, 2021).

Os avanços recentes têm permitido a impressão 3D de materiais biocompatíveis, células e componentes de suporte para tecidos vivos funcionais. A bioimpressão 3D está sendo aplicada à medicina regenerativa com o intuito de produzir tecidos e órgãos adequados para transplante, tendo como diferencial da impressão não biológica uma série de complexidades adicionais, tais como a seleção de materiais, tipos celulares, fatores de crescimento e diferenciação, além dos desafios técnicos relacionados com a sensibilidade das células vivas e a construção de tecidos (MURPHY; ATALA 2014).

Além de regeneração de tecidos danificados *in vivo* que estão além da capacidade de autorreparação no sentido convencional, também é possível através desta tecnologia construção de tecidos *in vitro*, modelos para entender comportamentos celulares e realizar triagem de drogas usando plataformas microfluídicas de órgãos em um chip, entre muitos outros. Dessa forma, a bioimpressão 3D mostra-se como uma ferramenta para a geração de tecidos e órgãos de estrutura e funções complexas para aplicação em transplantes (MATAÍ et al., 2020).

É importante lembrar que a angiogênese e vasculogênese são processos de fundamental importância para que ocorram o crescimento e desenvolvimento dos órgãos, podendo ser considerados fatores primordiais para a neoformação de tecidos funcionais. O uso da tecnologia na produção de novas células pode ocorrer estabilidade de células pós-fabricação é uma limitação corrente em impressões 3D devido à ausência de células progenitoras, sinalização física e difusão generalizada (KOLESKY et al., 2014).

Apesar de intenso progresso, sendo a engenharia tecidual um campo de pesquisa promissor, há ainda desafios no processo de desenvolvimento de tecidos funcionais complexos, como o sistema de vascularização, necessário para que o processo de crescimento tecidual se desenvolva. Para enfrentar esse desafio, uma abordagem multidisciplinar tem sido empregada. Ferramentas moleculares, computacionais, matemáticas e estatísticas vêm sendo utilizadas, visando obter melhor compreensão de processos celulares em seus diferentes níveis - fundamentos estes, muito importantes para a área da bioimpressão3D (DERNOWSEK et al., 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bioimpressão 3D é uma tecnologia inovadora com grande potencial na medicina, capaz de organizar precisamente e automaticamente células, biomoléculas indutoras e materiais (biomateriais, materiais sintéticos biocompatíveis e/ou biodegradáveis). Entretanto, muitos desafios precisam ser analisados e interpretados com cuidado para avançar de forma benigna e funcional.

REFERÊNCIAS

- CUI, H.; NOWICKI, M.; FISHER, J.P; ZHANG, L.G. 3D bioprinting for organ regeneration. **Adv Health Mater.** v.6 n.1 p. 1- 54, 2017.
- SANTOS, E.J.C.; MAZZEO, A. Perspectivas da bioimpressão na medicina regenerativa. **Rev, científica integrada**, v. 5, p 1-13, 2021.
- ZHANG, Y.S. et al. 3D Bioprinting for Tissue and Organ Fabrication. **Ann Biomed Eng.** v. 45, n.1, p. 148-163, 2017
- MURPHY, S.; ATALA, A. Bioimpressão 3D de tecidos e órgãos. **Nat Biotechnol**, v. 32, n. 8, p. 773-785, 2014.
- MUTREJA, I.; WOODIFIELD, T.B.; SPERLING, S.; NOCK, V.; EVANS, J.J.E.; ALKAISI, M.M. Positive and negative bioimprinted polymeric substrates: new platforms for cell culture. **Biofabrication.** v. 7 n.2 p. 25-45.
- KOLESKY, D.B; TRUBY, R.L.; GLADMAN, A.S.; BUSBEE, T.A.; HOMAN, K.A; LEWIS, J.A. 3D bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. **Adv Mater.** V. 26 n.19 p.24-30, 2014.
- MATAI, I.; KAUR, G.; SEYEDSALEHI, A. MCCLINTON, A.; LAURENCIN, C.T. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. **Biomaterials.** v. 226, 2020
- DERNOWSEK, J.A; PEREIRA, M.C.; FORNARI, T.A.; MACEDO, C.; ASSIS, A.F.; DONATE, P.B.; BOMBONATO-PRADO, K.F.; PASSOS-BUENO, M.R.; PASSOS, G.A. Posttranscriptional Interaction Between miR-450a-5p and miR-28-5p and STAT1 mRNA Triggers Osteoblastic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. **J Cell Biochem**, v.118, n.11, p. 4045-4062, 2017.

Palavras-chave: Bioimpressão. Células-tronco. Scaffold.



C A P E S

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022

<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

COMPARATIVOS DE DIFERENTES NUTRACÊUTICOS NA CITOTOXICIDADE DA
CISPLATINA EM SISTEMA DE CULTIVO CELULAR

*Alexandra de Siqueira Cajado Liarte (Discente de pós-graduação - Mestrado, UFPI¹),
Clarisse Maria Barbosa Fonseca (Discente de pós-graduação - Doutorado, UFPI¹),
Guilherme Thierre Lemos de Oliveira (Discente de graduação, UFPI²), Silvane Maria
Fonseca Murta (Docente de pós-graduação, Instituto René Rachou, FIOCRUZ³), Airton
Mendes Conde Júnior (Orientador, Programa de Pós-Graduação, UFPI¹)*

INTRODUÇÃO

O cultivo celular é um modelo utilizado para identificar novos fármacos, suas associações e terapias amenizadoras de efeitos colaterais (ALVES, GUIMARÃES, 2010). Pesquisas demonstram o papel dos nutracêuticos como mitigadores da ação danosa de quimioterápicos e o potencial da pesquisa em modelos de cultura de células como alternativa rápida e prática na triagem de novas substâncias (ALVES, GUIMARÃES, 2010). Por isso, objetivou-se avaliar o efeito modulador da L-Isoleucina, L-Leucina e L-Lisina na citotoxicidade da cisplatina em sistema de cultivo celular.

METODOLOGIA

Fármacos e nutracêuticos: Utilizou-se o antineoplásico Citoplax® na concentração de 1mg/ml (gentilmente cedido pela Dra. Cristiane Reis – Oncocenter®, Teresina, PI – Brasil). Foi investigada a interação do fármaco com 3 diferentes tipos de nutracêuticos: L-Leucina (Dinâmica química contemporânea LTDA, São Paulo, SP – Brasil); L-Isoleucina e L-Lisina (Merck®). Todos os produtos foram armazenados em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Os nutracêuticos foram solubilizados no momento do experimento, enquanto o Citoplax® foi utilizado em até 14 dias após preparo.

Cultura de células: Fibroblastos da linhagem L929 (ATCC CCL-1) foram mantidos em estufa 37°C, 5% CO₂ em garrafas de 25 cm² contendo meio RPMI-1640 (INLAB Diagnóstica), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2mM de GlutaMAX (Gibco™). As culturas foram mantidas até que as células atingissem confluência de 80%, com trocas de meio a cada 2 dias. As células foram tratadas com Tripsina 0,25% (Gibco™), contadas e dispersas em meio para repique, congelamento ou semente de placas para experimentação.

Avaliação da citotoxicidade e interação fármaco-nutracêutico: Células L929 foram semeadas em placas de 96 poços na quantidade de 4 x 10³ células/poço em 160µL de meio, incubadas a 37°C

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional, Universidade Federal do Piauí.

²Bacharelado em Medicina, Universidade Federal do Piauí.

³Doutorado em Bioquímica e Imunologia, Universidade Federal de Minas Gerais.

por 24 a 72 horas. Concentrações de cisplatina foram adicionadas aos poços, sempre no volume de 20µL e novamente incubadas a 37°C por 48 horas. Após a interação do fármaco com a cultura, 20µL de alamarBlue™ foi adicionado a cada poço (10% concentração final) e reincubadas a 37°C por 8 a 12 horas. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro (LMR FLEX UV-VIS i – Loccus®, Cotia, SP – Brasil) nos comprimentos de onda de 570 e 630 nm. Como controles do experimento foram utilizados o meio de cultura (branco), meio de cultura com alamarBlue™ (estado oxidado) e cultura com alamarBlue™ sem fármaco (crescimento máximo). Os ensaios de interação fármaco-nutracêutico foram realizados de forma similar aos de determinação do IC50, porém foram adicionados aos poços uma única concentração correspondente ao IC50 e diferentes nutracêuticos diluídos em meio na concentração de 5µg/mL (concentração final no poço: 0,5µg/mL). Também foram incluídos os controles: cultura e fármaco (IC50) sem nutracêutico, cultura e nutracêutico sem fármaco.

Análise estatística: Todas as variáveis de teste e controle foram avaliadas nas culturas em triplicatas ou hexaplicatas. Dessa forma, numa primeira etapa foi realizada uma análise de variância, sendo adotado por conveniência o limite de 10% de coeficiente de variância (CV) entre as réplicas. Foi utilizado um modelo de regressão sigmoideal conhecido como “dose-resposta” (Decuypere et al.,2005; Seifert & Croft, 2006) disponível no programa Microcal™ Origin™, versão 5.0 (Microcal software Inc, Northampton, MA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É esperado que a interação cisplatina-nutracêuticos seja dose-dependente, dessa forma para avaliar o efeito modulador dos nutracêuticos na citotoxicidade da cisplatina foi necessário, inicialmente, determinar o IC50 do fármaco considerando o modelo experimental selecionado. O valor médio de IC50 calculado foi de 3,0µg/mL (aproximadamente 10 µM). A partir da determinação do IC50 investigou-se a modulação do crescimento celular por três nutracêuticos aminoácidos, L-Leucina, L-Isoleucina e L-Lisina, na presença de cisplatina. Essa modulação é chave para estudos de estratégias terapêuticas amenizadoras dos efeitos colaterais da quimioterapia, pois é uma estratégia rápida, barata e eficiente na triagem de potenciais compostos. O efeito dos nutracêuticos sobre as culturas de células sem fármaco demonstrou que as suplementações com L-Leucina e L-Lisina apresentaram crescimento similar à cultura controle sem nutracêuticos, enquanto a com L-Isoleucina teve crescimento abaixo. Tendo como referência a concentração de nutracêuticos no meio de cultura RPMI-1640, a suplementação na dose 0,5 µg/ml representa um incremento de 10 a 100 vezes na concentração usual dos aminoácidos. Logo, esses resultados sugerem que os valores de concentração são seguros para propostas de triagem, onde a avaliação inicial do efeito é realizada com doses altas do produto em teste.

Na avaliação do crescimento das culturas suplementadas com nutracêuticos em meio contendo cisplatina, apenas a L-Leucina apresentou crescimento significativo em relação ao controle contendo o fármaco sem suplementação. Entre os demais nutracêuticos, não foi observado efeito sinérgico com a cisplatina, uma vez que o crescimento celular está na faixa de variação do cultivo contendo apenas o fármaco. Curiosamente, o aminoácido L-Leucina, que apresentou na ausência de cisplatina um

crescimento celular similar ao controle positivo, nas culturas contendo cisplatina apresentou crescimento significativamente superior ao cultivo sem fármaco.

A leucina é um aminoácido essencial de cadeia ramificada comumente encontrado como componente da nutrição parenteral total. Ela ajuda na regulação dos níveis de açúcar no sangue, no crescimento e reparo do tecido muscular (como ossos, pele e músculos), na produção do hormônio do crescimento, na cicatrização de feridas e na regulação da energia. Pode ajudar a prevenir a quebra de proteínas musculares que às vezes ocorrem após trauma ou estresse severo (WISHART et al., 2017). Além disso, vem sendo investigada por seu importante papel na sinalização celular, influências regulatórias no metabolismo de proteínas e carboidratos, biogênese dos ribossomos e na expressão gênica.

CONCLUSÃO

Dos três nutracêuticos avaliados, a L-Leucina apresentou capacidade de modular o crescimento celular na presença de cisplatina, estimulando-o. Neste trabalho, o modelo experimental para triagem de nutracêuticos amenizadores dos efeitos colaterais da quimioterapia com cisplatina, utilizando o sistema de cultivo de células, foi aplicável e apresentou resultados importantes. Novas pesquisas precisam ser realizadas para aplicações *in vivo*.

APOIO

Agradecimentos à Universidade Federal do Piauí, a Oncocenter e a Fiocruz Minas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. A.; GUIMARÃES, A. C. R. Cultivo celular. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G. & AMENDOEIRA, M. R. R. (Org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. v. 2. Rio de Janeiro: EPSJV, p. 215-253. 2010.
https://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/capitulo_5_vol2.pdf. Acesso em: 21 jun. 2022.

WISHART, D. S. et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. **Nucleic Acids Res.** 2017 Nov 8. Doi: 10.1093/nar/gkx1037.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

**EFEITOS DA BROMELINA COMO AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA NA
OSTEOARTRITE**

Cristina Cardoso da Silva (Discente pós-graduação - doutorado, Universidade Federal do Piauí¹), Cristiane Maria Sousa de Vasconcelos (Discente graduação, Universidade Estadual do Piauí²), Francisco da Chagas Alves Lima (Orientador, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia – Renorbio³)

Introdução:

Bromelina é uma importante enzima proteolítica disponível comercialmente, obtida do fruto ou caule do abacaxi. Estudos realizados em laboratório e em animais mostram que a bromelina tem uma variedade de efeitos fibrinolíticos, antiedematosos, antitrombóticos e anti-inflamatórios. Inúmeras vantagens terapêuticas da bromelina incluem desbridamento de feridas, melhor absorção do fármaco, e o manejo de sinusite, bronquite, angina pectoris, trauma cirúrgico e tromboflebite.

Além disso, trata várias condições cardiovasculares, diarreia e osteoartrite. Devido à sua baixa toxicidade, alta eficiência, alta biodisponibilidade e relativa simplicidade de aquisição, é objeto de inesgotável interesse dos cientistas. Sua utilização é comum na dor em seres humanos para inflamação aguda e lesões esportivas. A osteoartrite (OA) é a doença articular mais comum, afetando cerca de 240 milhões de pessoas em todo o mundo, incluindo uma estimativa de mais de 32 milhões nos EUA. É a causa mais frequente de limitação de atividade em adultos. Essa doença pode envolver qualquer articulação, mas geralmente afeta as mãos, joelhos, quadris e pés.

Caracteriza-se por alterações patológicas na cartilagem, osso, sinóvia, ligamento, músculo e gordura periarticular, levando à disfunção articular, dor, rigidez, limitação funcional e perda de atividades, como caminhar e dançar. Os fatores de risco incluem idade (33% dos indivíduos com mais de 75 anos têm OA de joelho sintomática e radiográfica), sexo feminino, obesidade, genética e lesão

¹ Rede Nordeste de Biotecnologia - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia-Doutorado, Universidade Federal do Piauí.

articular importante. Os primeiros estudos sobre a bromelina foram uma série de relatos de 28 pacientes, com quadros de osteoartrite moderada ou grave.

Os resultados indicaram que o uso de bromelina, em doses variadas e de duração diferentes, tiveram efeitos clínicos positivos em 18 pacientes (medidos pela avaliação da redução do inchaço dos tecidos, dor e / ou rigidez das articulações). Estes dados proporcionaram base para a avaliação adicional da bromelina nos transtornos musculoesqueléticos, mostrando um efeito significativo da bromelina na redução dos sintomas de dor aguda leve no joelho com menos de 3 meses de duração e na melhoria do bem-estar em 77 adultos saudáveis. Objetiva-se verificar os efeitos da bromelina como ação anti-inflamatória na osteoartrite.

Materiais e Métodos:

Esse trabalho foi elaborado a partir de uma revisão integrativa da literatura nas bases de dados *Scientific Eletronic Library Online* (Scielo), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (Lilacs) e *National Library of Medicine* (Pubmed), no período de novembro de 2021 a agosto de 2022. Para a coleta dos artigos foram utilizados os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e utilizado o operador booleano "AND", as palavras-chave utilizadas foram "bromelina" e "osteoartrite" e suas correspondentes em inglês, "bromelain" e "osteoarthritis". Os critérios de inclusão foram: texto completo disponível, no idioma português e inglês, publicados entre os anos de 2011 e 2022, e os de exclusão: artigos publicados em forma de revisão bibliográfica e os que se encontravam disponíveis somente em resumo.

Resultados e discussão:

Na busca eletrônica, foram selecionados 32 artigos em três bases de dados: Scielo (n=0), Lilacs (n=21) e Pubmed (n= 11). Ao analisar títulos, aplicar critérios de inclusão e exclusão, apenas 04 estudos foram escolhidos para a discussão. Uma vez que a combinação de drogas é amplamente utilizada para tratar doenças inflamatórias crônicas, uma estratégia semelhante de projetar produtos naturais derivados de plantas para reduzir a inflamação nas articulações da OA pode ser de interesse.

A combinação de três compostos vegetais, a saber, curcumina, bromelaína e harpagophytum, têm efeitos anti-inflamatórios e anti-catabólicos nas células sinoviais e podem, assim, reduzir a progressão da OA e a dor relacionada. A bromelina melhorou a degradação da matriz cartilaginosa em modelo de explante de cartilagem suína inflamada e atenuou o processo inflamatório em fibroblastos sinoviais. As evidências deste estudo apoiaram e explicaram os efeitos anti-inflamatórios e analgésicos da bromelina na artrite em modelos animais e estudos clínicos.

Em outra pesquisa foram avaliados 49 pacientes que tomaram um suplemento à base de *Boswellia serrata* e bromelina por um período entre 1 e 6 meses e constatou-se que o consumo diário de uma formulação de suplemento alimentar gastrorresistente contendo essa combinação poderia melhorar a qualidade de vida de pacientes que sofrem de várias formas de OA. A partir deste estudo piloto, surge que o uso da formulação gastrorresistente contendo a combinação de suplementos de

Boswellia serrata e bromelina pode representar uma ferramenta não farmacológica valiosa para melhorar a qualidade de vida em pacientes com OA.

Analisou-se a relevância clínica da eficácia de um complexo comercializado de 3 extratos de plantas - Garra do diabo (*Harpagophytum procumbens*), cúrcuma (*Curcuma longa*) e bromelina (AINAT, 650 mg) – para o tratamento em 42 pacientes que sofriam de dores agudas ou crônicas, degenerativas na coluna ou nas articulações, e considerou-se que a melhora da dor nas articulações foi clinicamente acentuada em pacientes tratados com duas cápsulas de 650 mg de AINAT para dor aguda e crônica da OA.

Avaliando seu excelente perfil de tolerância, o complexo testado de 3 extratos de plantas com propriedades anti-inflamatórias pode ser uma alternativa valiosa e segura aos anti-inflamatórios não hormonais (AINEs) em pacientes que sofrem de doenças articulares degenerativas.

Conclusão:

A bromelina é uma biomolécula de grande interesse industrial farmacêutica; no entanto, existem várias áreas a serem exploradas em termos de sua purificação, estabilização e compreensão adequada do mecanismo de ação, para que as variadas ações atividades da bromelina possam ser aplicadas de forma eficiente. Os artigos selecionados para compor esta revisão demonstraram que a bromelina foi reconhecida como um tipo seguro e bem-sucedido agente terapêutico e está sendo utilizada por indivíduos em todo o mundo para diversas doenças, como a osteoartrite. Foi possível verificar que vários estudos *in vivo* foram realizados sobre a atividade anti-inflamatória da bromelina, mas o mecanismo real do efeito anti-inflamatório não está totalmente estabelecido.

Palavras-chave: Bromelina. Anti-inflamatório. Osteoartrite.

Referências

- AGRAWAL, P. et al. Bromelain: A Potent Phytomedicine. **Cureus**. V.8, p.11-14, 2022.
- COHEN, A.; GOLDMAN J. Bromelain therapy in rheumatoid arthritis. **Penn Med J**. v.67 p.27–30, 1964.
- CONROZIER, T. et al. A complex of three natural anti-inflammatory agentes provides relief of osteoarthritis pain. **Altern Ther Health Med**. Winter; v.20, p.32-37, 2014.
- BROCHARD, S. et al. The benefit of combining curcumin, bromelain and harpagophytum to reduce inflammation in osteoarthritic synovial cells. **BMC Complement Med Ther**. V.14, p.261, 2021.
- HIKISZ, P.; BERNASINSKA-SLOMCZEWSKA, J. Beneficial Properties of Bromelain. **Nutrients**. 29;13(12):4313, 2021.
- MAURER, H.R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. **Cell Mol Life Sci**. 58:1234–45, 2001.

Expressão imunohistoquímica de marcador de células-tronco tumoral em Adenocarcinoma Ductal Pancreático e sua correlação com marcadores de proliferação e apoptose celular

Raimundo José Cunha Araujo Junior (Professor de cirurgia Medicina HU-UFPI), Raimundo Gerônimo da Silva Junior (Professor de patologia Medicina/UFPI), Bruna Benigna Sales Armstrong (Discente medicina, UFPI), Napoleão Martins Argôlo Neto (Coordenador geral do NUPCelt/UFPI), Maria Acelina Martins de Carvalho (NUPCelt/UFPI)

INTRODUÇÃO:

O adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) representa 90% dos casos de neoplasia maligna do pâncreas em humanos e quarta colocação, estimando-se progressão para o segundo lugar dentre as causas de óbitos oncológicos até 2030, em virtude da ocorrência precoce de metástases e da resposta insatisfatória aos protocolos quimio e radioterápicos atuais (TORRES, 2019).

As células-tronco cancerígenas pancreáticas (CSCs) podem ser responsáveis pelos processos de iniciação, crescimento, disseminação e resistência do PDAC e, embora pesquisas contemporâneas descrevam essas características *in vitro* de CSCs CD44+/CD133+, esta hipótese ainda não foi confirmada e o impacto da heterogeneidade das células cancerígenas tanto no desenvolvimento da doença neoplásica, quanto na terapia não foi totalmente investigado (ZHAO et al., 2017). E a relação das CSCs com outras linhagens tronco multipotentes, como as células-tronco mesenquimais (MSC), não foi igualmente compreendida. Diante desse contexto, este estudo objetiva comparar a expressão de marcador imunohistoquímico específico para CSCs, apoptose e proliferação celular em tecidos pancreáticos neoplásicos.

METODOLOGIA:

Foi avaliada a expressão de marcador de CSCs em tecido neoplásico de espécimes obtidos a partir de blocos de parafina de tumores PDAC operados no Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), em um período de 2018 a 2020. O estudo foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HU-UFPI.

A marcação imuno-histoquímica para os marcadores CD44, Ki-67 e BCL2 foi feita em lâminas de tecido tumoral. Foram escolhidos 5 campos com aumento de 200x e estabelecido um escore de expressão de CD44: um para <25% das células, dois para 26 a 50% das células, e três quando > 50%. Foi realizada uma avaliação de intensidade de coloração: zero a um para baixa, dois para média e três para alta intensidade, sendo posteriormente estabelecido o *Immuno Reactive Score* (IRS). Para os marcadores Ki67 e BCL2 foi utilizado o software J-Image® para cálculo do percentual de expressão.

As análises estatísticas foram processadas no programa Stata® versão 14. A correlação entre a expressão de marcadores de CSCs em tecido neoplásico com as variáveis independentes foi examinada a partir do teste de correlação de Spearman. Foram aceitos como estatisticamente significativos os testes com valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Selecionou-se 53 prontuários de paciente submetidos a duodenopancreatectomias para neoplasia maligna, dos quais 10 tinham resultados histopatológicos de adenocarcinoma ductal. Somente foi possível a obtenção das informações adequadas de 7 desses, sendo: 42,8% do sexo feminino e 57,7 do sexo masculino. A média de idade foi de 67,8 anos (DP: 6,7), mediana de 70 anos, mínimo de 56 e máximo de 76 anos.

Dos sete pacientes, 4 apresentaram IRS 9 e um paciente apresentou IRS 3 para CD44, coincidindo com elevada expressão do Ki67. Não houve expressão de BCL-2 em nenhuma das amostras. Resultados mostraram forte correlação negativa estatisticamente significativa do CD44 com as margens do tumor e forte correlação positiva com bilirrubina indireta.

Para o Ki67, observou-se forte correlação negativa estatisticamente significativa com nível de ureia e não estatisticamente significativa com a creatinina, além de forte correlação positiva estatisticamente significativa com AST e ALT. Houve expressão elevada na maioria das amostras para CD44 e Ki67, enquanto BCL2 foi negativa em todas as amostras examinadas.

A importância das células tronco no desenvolvimento de um câncer é baseada em três características fundamentais: vida longa dentro dos tecidos, capacidade de acumular múltiplas mutações transformadoras e auto renovação em células com idêntico potencial de diferenciação e de proliferação (OLEMPKA, 2007).

A primeira descrição de CSC pancreáticas é de 2007 (LI, 2007). Desde então já se descreveu: a possível identificação das CSCs por vários marcadores tumorais, incluindo CD44; a coparticipação das CSC com outros componentes, celulares ou não, na construção do microambiente tumoral, células pancreáticas estreladas, além de fibroblastos e macrófagos associados ao câncer. E por fim, perspectivas e potencial terapêutico no PDAC a partir do conceito sobre as CSC (Di CARLO, BRANDI e CECCONI, 2018). Em 2019 foi demonstrado em um detalhado estudo que a isoforma CD44v6, afeta a transcrição, translocação e a sinalização celular do câncer pancreático. Através da modificação da composição exossomal e sua liberação, em associação com tetraspanina Tspan8, integrinas e proteases, exercendo assim um papel importante na biogênese de vesículas pró-metastáticas (SUN et al. 2019). Em estudo imuno-histoquímico é interessante se seguir dois aspectos: campo escolhido para avaliação e escore de avaliação da expressão do marcador. Outro ponto a ser considerado é a interpretação pessoal do examinador. Assim a escolha de correlacionar marcadores de proliferação e apoptose dar maior evidência a importância de um marcador de célula tronco tumoral. O marcador Ki-67 é uma proteína nuclear expressa em células em proliferação, a qual apresentou significância estatística em relação à progressão da doença em diversos estudos: TEMRAZ et. al (2019) relata que para cada 1% de aumento de unidade no Ki-67, o risco de progressão será 3% maior. A família BCL-2, por sua vez, regula a apoptose mitocondrial celular: as proteínas anti-apoptóticas BCL-2 atuam sob efetores pró-apoptóticos BAX e BAK, de maneira que sua sinalização anormal está associada ao desenvolvimento de diversos tipos de câncer, bem como ao processo de quimiorresistência (Wang et al, 2021). A expressão elevada de CD44 e Ki67, na maioria das amostras são condizentes com a literatura (GZIL, 2019), e mostram elevada proliferação celular em CSCs CD44 positivas. A expressão de Bcl-2 negativa em todas as amostras examinadas sugere haver ausência de apoptose no material

avaliado. A metodologia adotada no presente estudo para avaliação da correlação de expressão de CSCs com a proliferação celular (Ki67) e a apoptose (Bcl-2) apresenta limitações. Dentre elas, o uso de um único marcador, bem como o reduzido tamanho da amostra, dificultando extrapolação dos resultados.

CONCLUSÃO:

O presente estudo demonstra a alta expressão CD44 em PDAC, associada a uma elevada proliferação celular (Ki67) e uma ausência de expressão de apoptose (Bcl-2).

APOIO: Laboratório LAPAC - Patologia Cirúrgica e Molecular

REFERÊNCIAS:

CAPP, J-P. Cancer stem cells: from historical roots to a new perspective. *J Oncol.* (2019) 2019:5189232. doi: 10.1155/2019/5189232).

Di CARLO, C; BRANDI, J; CECCONI, D. Pancreatic cancer stem cells: Perspectives on potential therapeutic approaches of pancreatic ductal adenocarcinoma. *World J Stem Cells* 2018; 10(11): 172-182 Available from: URL: <http://www.wjgnet.com/1948-0210/full/v10/i11/172.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.4252/wjsc.v10.i11.172>

GZIL, A. Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Molecular Biology Reports* (2019) 46:6629–6645 <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05058-1>.

SUN, Hanxue, RANA, S., WANG, Z., et alli. The Pancreatic Cancer-Initiating Cell Marker CD44v6 Affects Transcription, Translation, and Signaling: Consequences for Exosome Composition and Delivery. *Journal of Oncology* Volume 2019, Article ID 3516973, 24 pages <https://doi.org/10.1155/2019/3516973>

LIN, F; CHEN, Z; HANLIN, E W.; Immunohistochemistry in the Pancreatobiliary Tract. *Arch Pathol Lab Med—Vol 139*, January 2015.

LIU, Y; WU, T; LU, D. ZHEN, J; ZHANG, L; Superexpressão de CD44 relacionada à metástase linfonodal e prognóstico ruim de câncer de pâncreas. *O Jornal Internacional de Marcadores Biológicos.* 2018;33(3):308-313. doi: 10.1177/1724600817746951

OLEMPСКА, M; EISENACH, P A; AMMERPOHL, O; UNGEFROREN, H, et alli. Detection of tumor stem cell markers in pancreatic carcinoma cell lines. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, Vol 6, No 1 • February 15, 2007.

TEMRAZ, S., SHAMSEDDINE, A., MUKERJI, D. et al. Ki67 and P53 in Relation to Disease Progression in Metastatic Pancreatic Cancer: a Single Institution Analysis. *Pathol. Oncol. Res.* 25, 1059–1066 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0464-y>

TORRES, O.; Adenocarcinoma do Pâncreas, IN: Cirurgia do Fígado, Pâncreas e Vias Biliares. Cap. 48, p309-19 Editora Rubio, 2019.

WANG, H; REN, R; YANG, Z; CAI, J; et alli. The COL11A1/Akt/CREB signaling axis enables mitochondrial-mediated apoptotic evasion to promote chemoresistance in pancreatic cancer cells through modulating BAX/BCL-2 function. J Cancer. 2021 Jan 1;12(5):1406-1420. doi: 10.7150/jca.47032. PMID: 33531986; PMCID: PMC7847647.

Palavras-chave: Células tronco tumorais. Câncer de Pâncreas. Imunohistoquímica.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

ISOLAMENTO E EXPANSÃO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS
ADIPODERIVADAS - ADSC COLETADAS DA GORDURA PERICÁRDICA E
SUBEPICÁRDICA EM CÃES (*Canis lúpus familiaris*)

Ianahanna Duarte Santos Soares (Discente graduação, Universidade Federal do Piauí¹), Ana Mel Santos Viana (Discente graduação, Universidade Federal do Piauí), Karine Santos Leal (Discente graduação, Universidade Federal do Piauí), Marina Mendes de Carvalho Alencar (Discente graduação, Universidade Federal do Piauí), Cleyton Charles Dantas Carvalho - (Méd. Vet NUPCelt/CCA), Hermínio José da Rocha Neto (Med. Vet NUPCelt/CCA); Paulo Marques Costa - (Med. Vet - Gerência Zoonose/PMT); Flávio Alves Ribeiro - (CCA/DMV), Miguel Ferreira Cavalcante Filho (Orientador, DMV/CCA, Universidade Federal do Piauí)

1. INTRODUÇÃO

Pesquisas com células-tronco são um desafio para a ciência. Sendo as células-tronco capazes de gerar uma cópia idêntica a si mesma e com potencial de diferenciação em diversas categorias funcionais de células. Estudos vêm sendo realizados sugerindo que as células-tronco mesenquimais apresentam potencial de diferenciação em proximidade as células-tronco embrionárias, podendo originar células de vários tecidos, como células do tecido adiposo, ósseo, cartilaginoso e células não mesenquimais como as neurais e epiteliais.

As células-tronco mesenquimais do tecido adiposo de cães, seu cultivo e diferenciação, foram isoladas, cultivadas e diferenciadas em osteoblastos, adipócitos e condrócitos. Avaliaram-se a cinética do crescimento, a morfologia e a viabilidade celular. A caracterização citoquímica comprovou a natureza mesenquimal das células isoladas. A extração, cultivo e expansão de células-tronco mesenquimais de tecido adiposo do subcutâneo de cães machos com seis meses de idade, foram isoladas e caracterizadas com morfologia alongada e fusiforme e capacidade de diferenciação em osteoblastos, adipócitos e condrócitos.

Investiga-se a possibilidade das células-tronco adipodiferenciadas serem de maior capacidade de diferenciação em cardiomiócitos, especialmente as do sítio subepicardial pela própria natureza

¹ Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí.

fisiológica das mesmas em fornecer suporte nutricional ao tecido miocárdico na fisiologia normal do órgão (BERTASO et al, 2013).

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi realizado no Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisas com Célula-Tronco (NUPCelt) localizado no Centro de Ciências Agrárias na Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI. Realizando a coleta séptica e cultivo de células tronco adiposas, a coleta do material de pesquisa passou a ser realizada em 03 cães machos, adultos, SRD, decorrentes da eutanásia praticada pela Gerência de Zoonose da Prefeitura Municipal de Teresina. Realizada a eutanásia, material seccionado foi lavado em solução fisiológica estéril e acondicionado em recipiente de transporte contendo meio de cultivo celular Dulbecco's Modified Eagle's GlutaMAX, sendo suplementado com 20% de soro fetal bovino, 1% de penicilina e estreptomicina, 1% de L-glutamina e 1% de aminoácidos não essenciais, sendo aquecido a 37°C e transportado devidamente ao núcleo de pesquisa.

Posterior a coleta, as amostras foram transportadas em tubos Falcon contendo meio de transporte previamente preparados (PBS+ATB 10%), e levados para manipulações na cabine de fluxo laminar. Dentre os procedimentos de isolamento, foi realizada a dissociação química, preparando a colagenase, pesando 2 mg em papel-alumínio ou em microtubos para diluir em 15 ml Krebs dentro da cabine (tubo Falcon 15 ml). Por seguinte, a solução foi esterilizada em filtro de seringa 0,22 µm com o auxílio de uma seringa de 20 ml.

Em continuidade ao isolamento, executou-se a dissociação mecânica, retirando o tecido adiposo do meio e colocado em placa de Petri, lavado 2 vezes com PBS. De maneira que, ao transferir para outra placa e adicionar 0,5 ml do meio de transporte para ajudar no processo de desbaste, a dissociação do explante, e adicionado o meio com colagenase, após a obtenção de fragmentos para a realização da dissociação química e física ao mesmo tempo. Logo, com auxílio de duas lâminas de bisturi, realizou-se o desbaste do tecido com cortes mecânicos em diferentes posições até que se formou uma massa homogênea com fragmentos pequenos.

Com o uso da solução com colagenase, foi realizada a incubação por 2 minutos, e logo após realizada a neutralização com o dobro de meio suplementado com SFB 20%. Ademais, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, foi aspirado o tecido que é colocado dentro do tubo Falcon contendo meio de transporte e levado para centrifugar (1500 por 10 minutos rpm a 4°C). Ao finalizar a centrifugação, foi retirado o explante de tecido adiposo, semeando nas garrafas e placas com 2mL de meio de cultivo celular. Por seguinte, o pellet foi ressuscitado com 1 ml de meio de cultivo e semeada a suspensão em 2 frascos de cultivo celular de 25 cm². Após o semeio os frascos foram levados à incubadora a temperatura de 37°C a 5% CO₂.



Fig. 1. Fotografia da Cultura celular adiposa em frascos de 25 cm² e placa de 9,60 cm² de superfície após uma semana, conservados em estufas sob temperatura e taxa de CO₂ controladas. Fonte: Autora.

Ao decorrer dos dias foi avaliado o cultivo após 24 horas observando a coloração do meio, e após 48 horas foi realizada a troca do meio, retirando de 1 a 1,5 ml do meio e adicionar o mesmo volume com meio suplementado SFB 20%, visando preservar os fatores de crescimento. O cultivo celular permaneceu nesse processamento por três passagens onde foram semeadas em outras placas em proporção geométrica. Em 3^a passagem as células tronco adipoderivadas serão contadas e estabelecidas como o número amostral da pesquisa, sob o qual incidirá a análise de seu desenvolvimento bem como as variáveis estatísticas considerando o comportamento de tais células advindas dos dois sítios de coletas; pericárdica e subepicárdica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O soro bovino fetal (FBS) é o suplemento de crescimento mais utilizado para cultura celular de mamíferos, devido apresentar nutrientes celulares essenciais. Assim, este auxilia no crescimento de células em cultura de forma essencial para alcançar boas taxas de confluência. Ademais, obteve-se êxito com a realização desse método, devido ao uso não convencional de gordura de regiões mais internas, possibilitando a capacidade de isolamento e dissociação com colagenase e as células conseguem aderir ao plástico.

Nesse viés, para ocorrência da expansão e formação de colônias, observou-se que com ampla área para confluir, as colônias apresentaram resistência para união das mesmas, prolongando o tempo para realizar a tripsinização. Logo,, é viável a adequação da metodologia para substituir o uso de garrafas para o uso de placas com 6 ou 8 poços, contribuindo na redução do espaço e na porcentagem da área do meio de crescimento coberta por células aderentes rapidamente.

No presente trabalho foi realizada a isolamento e expansão de Células Tronco Mesenquimais Adipoderivadas - ADSCs de tecido adiposo pericárdico e subepicárdio do coração de cães (*Canis lupus familiaris*). Com a troca do meio, conforme citado, foi analisado em microscópio invertido para cultivo celular o desenvolvimento, realizando o acompanhamento dos fragmentos de tecido vivo, denominados explantes.

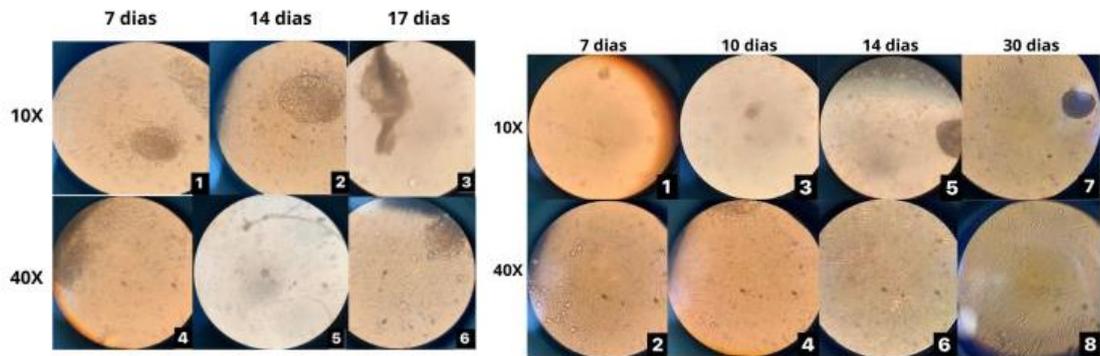


Fig. 2. Fotomicrografia do desenvolvimento celular de pellet do epicárdico em aumento 10x e aumento 40x após períodos de 07, 14 e 17 dias, respectivamente. Fig. 3. Fotomicrografia do Desenvolvimento celular de pellet do pericárdico em aumento 10x e aumento 40x após períodos de 07, 10, 14 e 30 dias, respectivamente. Fonte: Autora.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que a metodologia de isolamento e expansão de células tronco mesenquimais adipoderivadas coletadas da gordura pericárdica e subepicárdica em cães utilizada é estabelecida, com a finalidade de investigar a curva de crescimento e ciclo celular de linhagens, cuja impacto será direcionado à diferenciação de elementos cardiogênicos. Sendo as células obtidas um grupo heterogêneo, podendo ser promissor no campo da terapia celular.

Como resultado, foi alcançado o objetivo inicial na realização do isolamento e expansão de células-tronco mesenquimais adiposas da gordura pericárdica e epicárdica de cães, para fins de criopreservação e armazenamento no Laboratório de Cultivo de Células Tronco do NUPCelt, da UFPI.

5. APOIO

Mestrado do PPGTAIR/CCA/UFPI.

NUPCELT/CCA/UFPI.

Gerência de Zoonose/PM.

6.REFERÊNCIAS

BERTASO, Angela Gallina et al. Gordura epicárdica: definição, medidas e revisão sistemática dos principais desfechos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 101, p. e18-e28, 2013.

GHORBANI, Ahmad; JALALI, Seyed Amir; VAREDI, Masoumeh. Isolation of adipose tissue mesenchymal stem cells without tissue destruction: a non-enzymatic method. **Tissue and Cell**, v. 46, n. 1, p. 54-58, 2014.

OPERACIONAIS, N. T. E. Vigilância, Prevenção e Controle de Zoonoses. 2016



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

**O SISTEMA CRISPRCas COMO ALTERNATIVA ÁGIL E EFICIENTE NA
DETECÇÃO DA COVID19**

*Beatriz Lemos da Silva Loureiro (Discente de graduação em Biomedicina, Centro
Universitário Unifacid Wyden), Evelle Rodrigues Souza (Discente de graduação em
Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden), André Cardoso Tavares (Discente de
graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden)*

INTRODUÇÃO

Com o surgimento do novo coronavírus 2019 (COVID-19) em Wuhan, na China, que se espalhou rapidamente e se tornou uma pandemia global, fez-se necessário um sistema de diagnóstico precoce da infecção viral que permitisse uma rápida intervenção, manejo e controle substancial da disseminação da doença. Dessa forma, a abordagem global padrão adotada para o diagnóstico da COVID-19 foi o teste RT-qPCR; no entanto, o acesso limitado a kits e reagentes associados a necessidade de equipamentos de laboratórios especializados e a necessidade de pessoas altamente qualificadas levou a uma desaceleração da detecção do vírus, o que resultou na necessidade de desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico. A partir desse princípio, surgiu a necessidade de se utilizar a biotecnologia de edição e manipulação genética do sistema CRISPRCas como uma alternativa de auxiliar na identificação precoce e no combate ao vírus.

DESENVOLVIMENTO

Em dezembro de 2019, um novo coronavírus (nCoV) denominado “SARS-CoV-2”, anunciado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como responsável pelo surto de COVID-19, foi relatado (Huang et al., 2020) (Rodríguez-Morales., et al 2020). A incidência do SARS-CoV (Síndrome Respiratória Aguda Grave-coronavírus) em 2002 e 2003 e o MERS-CoV (Síndrome Respiratória do Oriente Médio-coronavírus) em 2012 mostraram o potencial para a transmissão de CoVs recém-emergentes de animal para humano e de pessoa para pessoa (Ksiazek et al., 2003) (de Groot et al., 2013) (Drosten et al., 2003).

Devido à sua ampla gama de hospedeiros e recombinação de alta frequência em vírus corona, a geração de vírus virulentos elevados é comum nesta família. Os coronavírus humanos mais comuns que podem causar uma infecção leve, como o resfriado comum em humanos, incluem Coronavirus Humano NL63 (HCoVNL63), Coronavirus Humano 229E (HCoV-229E), Coronavirus Humano OC43

(HCoV-OC-43) e Coronavírus Humano HKU1 (HCoV-HKU1). Antes de 2003, acreditava-se que membros dessa família causavam apenas uma doença respiratória leve, mas o surgimento de novos coronavírus SARS-CoV em 2003, MERS-CoV, em 2012 e o SARS-CoV-2 mais recente em 2019 indicaram que eles podem causar síndrome respiratória aguda grave. Portanto, métodos acessíveis, precisos e rápidos para detecção do COVID-19 são necessários para identificar rapidamente as pessoas infectadas e isolá-las para reduzir o risco de transmissão da doença e evitar a disseminação adicional desse vírus (Saeedeh Ebrahimi et al., 2022).

Recentemente, o desenvolvimento de sistemas de diagnóstico de Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas (CRISPR) remodelou o diagnóstico molecular. Com o surto global de COVID-19, diferentes grupos começaram a projetar e desenvolver programas diagnósticos e terapêuticos baseados nesse eficiente sistema. Os sistemas de diagnóstico COVID-19 baseados em CRISPR têm vantagens como alta velocidade de detecção (ou seja, 30 minutos de amostra bruta para chegar a um resultado), alta sensibilidade e precisão, portabilidade e não necessidade de equipamentos de laboratório especializado (Hosseini Rahimi et al., 2021).

A tecnologia de repetições palindrômicas curtas regularmente interespaçadas agrupadas (CRISPR) é vista como uma ferramenta poderosa para editar genomas (Safari et al., 2018, 2020b). Isso permite que os pesquisadores alterem as sequências de DNA e modifiquem a função do gene facilmente. CRISPR e proteínas Cas associadas carregam muitas aplicações potenciais que incluem a correção de defeitos genéticos, tratamento e prevenção da propagação de doenças (Safari et al., 2021). Dessa maneira, a associação da proteína Cas13 (enzima da família Cas que cliva moléculas de RNA viral) levou o desenvolvimento de um novo e avançado sistema para diagnosticar a COVID-19, o Desbloqueio Enzimático de Repórter Específico de Alta Sensibilidade (SHERLOCK), pela Feng Zhang e suas faculdades do Broad Institute of MIT e Harvard (Hosseini, et al., 2020)

O sistema SHERLOCK baseado em CRISPR-Cas13 consiste em dois guias de RNA, que são combinados com uma proteína Cas13 e formam um sistema SHERLOCK para reconhecer a presença de RNA viral COVID-19. (Hosseini, et al., 2020). Este complexo baseado em Cas13a reconhece explicitamente e cliva o ácido nucleico alvo. O efeito colateral de Cas13a causa a clivagem de RNA não-alvo acoplada a um repórter fluorescente. Essas clivagens liberam os supressores e fornecem um sinal fluorescente para detecção rápida e específica de vírus, mesmo em concentrações bastante baixas (Safari et al., 2021).

Contudo, esse mecanismo permitiu a identificação ultrasensível e específica de RNA de amostras clínicas (Yin et al., 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante das pesquisas realizadas, é possível compreender a necessidade e importância da implementação de sistemas ágeis e confiáveis de detecção do SARS-COV-2 como forma de combate precoce da propagação do vírus. Estudos indicam que um método de diagnóstico baseado no CRISPRCas tem alta sensibilidade e especificidade. Portanto, esta seria uma ferramenta de diagnóstico potencial para melhorar a precisão da detecção do SARS-CoV-2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EBRAHIMI, S. *et al.* Sistema CRISPR-Cas System: A promising diagnostic tool for Covid-19. **AJMB**, doi: 10.18502/ajmb.v14i1.8165, v. 14, n. 1, p. 3-9, jun./2021.

FATEMEH, S. *et al.* CRISPR Systems: New Approaches to Detecting and Combating COVID-19. **Elsevier**, v. 294, n. 198282, p. 1-12, jan./2021. Disponível em: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168170220311898. Acesso em: 7 nov. 2022.

HOSSEINI, E. S. *et al.* The novel coronavirus Disease-2019: Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. **Elsevier**, <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.08.011>, v. 511, n. 1, p. 1-9, set./2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566321005789>. Acesso em: 3 nov. 2022.

RAHIMI, H. *et al.* CRISPR Systems for COVID-19 Diagnosis. **ACS Sens.**, <https://doi.org/10.1021/acssensors.0c02312>, v. 6, n. 4, p. 1430-1441, jan./2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33502175/>. Acesso em: 7 nov. 2022.

SHARMA, Anshika; FAROUK, Isra Ahmad; LAL, Sunil Kumar. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. **MDPI**, MDPI, v. 13, n. 2, p. 2-25, jan./2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13020202>. Acesso em: 7 nov. 2022.

YIN, L. *et al.* CRISPR-Cas based virus detection: Recent advances and perspectives. **Elsevier**, ScienceDirect, v. 193, n. 113541, p. 1-10, dez./2021. Disponível em: sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566321005789. Acesso em: 3 nov. 2022.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

**O USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS COMO TRATAMENTO DO
CÂNCER E SUA COMPLEXIDADE**

Francisca Kaline Ferreira Pereira (Discente do curso de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden¹); André Cardoso Tavares (Discente do curso de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden); Luísa Vitória de Sa Carneiro Souza (Discente do curso de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden); Francisca Louenny Alves Cardoso (Biomédica, Universidade Federal do piauí)

INTRODUÇÃO

De acordo com o Instituto Nacional Do Câncer (INCA) 2022, o câncer é o conjunto de mais de 100 tipos de neoplasias malignas, onde células mutadas geneticamente começam a fazer mitose e dividem-se descontroladamente fazendo com que as células normais se transformem em células cancerosas. Essa mutação causa danos no DNA da célula, fazendo com a mesma perca sua funcionalidade de origem. Diversas são as pesquisas para o tratamento de inúmeros tipos de câncer, e a pesquisa com células tronco mesenquimais (CTM) geram bastante expectativa na comunidade científica desde a descoberta de Amelia Bartholomew et al. em 2002 da capacidade das CTM de modular a resposta imune (LAN; LUO; WEI, 2021).

A habilidade que essas células tem de auto renovação e de serem indiferenciadas é o que faz com que elas sejam tão complexas e chamem tanto a atenção de estudiosos, pois é por meio dessas características que alternativas terapêuticas vêm sendo adotadas em algumas patologias, sendo uma delas o câncer (BABAEI; AZIZ; JAGHI, 2021).

Portanto, este trabalho expõe uma revisão de literatura narrativa, abordando de forma qualitativa, a complexidade do uso de células tronco mesenquimais no tratamento do câncer. Foi realizada uma busca nas bases de dados online PubMed, LILACS, MEDLINE e SciELO, por meio de buscas avançadas utilizando as expressões “mesenchymal stem cells” and “cancer”, “células-tronco mesenquimais” e “câncer”. A seleção das publicações ocorreu por meio de leitura, na íntegra, dos textos como forma de selecioná-los de acordo com os critérios de inclusão e exclusão em um recorte temporal

¹ Discente do curso de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden.

de 2018 até 2022. Durante a fase de inclusão das publicações, foram avaliados os artigos completos de forma crítica e independente com conexão direta ao tema.

DESENVOLVIMENTO

As células tronco são uma variedade de células que no momento não são totalmente compreendidas, sua complexidade vai além do entendimento das atuais pesquisas. No entanto, é crescente os campos da medicina onde essas células são utilizadas, tendo em vista estudos relacionados a medicina regenerativa, doenças neurodegenerativas, procedimentos estéticos, tratamento do câncer e etc. Dentre as especialidades onde as mesmas vêm sendo estudadas, o uso dessas células para tratamento do câncer vem trazendo uma forte discussão, visto que há um paralelo a respeito de sua utilização para fins terapêuticos (POLIWODA et al., 2019).

O câncer é decorrente de uma mutação genética, na qual as células passam a multiplicar-se de forma descontrolada modificando o DNA original da célula. Um processo semelhante a formação do câncer, é o que ocorre na replicação de células-tronco, visto que essas células têm alto poder de renovação no organismo vivo. Pesquisas realizadas com células-tronco mesenquimais, investigam um paralelo entre a ajuda dessas células na progressão do tumor e de contrapartida o uso delas para o tratamento antitumoral, ou seja, esse tipo de célula contribui para dois processos distintos. Foi feita uma análise e verificou-se que as CTMs em alguns órgãos onde tipos diferentes de cânceres estão presentes em locais como fígado, câncer de pulmão, tumores pancreáticos e linhas celulares o tratamento com células tronco tem efeito tumoricida, ou seja, obtém-se sucesso naquela terapêutica, no entanto, outro estudo mostrou que em cânceres de mama e de colo do útero ao contrário do efeito anterior, a uma progressão do tumor e ainda a capacidade de se proliferar para outros tecidos, termo conhecido como metástase (LIN et al., 2019).

Células troncos mesenquimais também agem sob o sistema imunológico, prova disso é a capacidade que essas células tem de modular a resposta imune, processo conhecido como imunomodulação. Esse mecanismo afeta a proliferação de linfócitos alogênicos *in vitro*, prolongam a sobrevivência de enxertos de pele em receptores incompatíveis, inibem a ativação de células natural killer, são usadas em terapias ligadas ao câncer e mais alguns outros potenciais de uso. Com relação a terapia voltada para o câncer, assim como em outros estudos com finalidade semelhante a essa, que é a terapêutica dessa patologia, estudos apontam que o uso de CTMs podem impedir o crescimento tumoral através de possíveis induções da célula doente a apoptose, no entanto, as CTMs também estão associadas ao crescimento tumoral contribuindo para o desenvolvimento da malignidade (LAN; LUO; WEI, 2021).

As terapias utilizando células tronco são vistas com grande potencial para o tratamento de neoplasias, mas tendo em vista a complexidade molecular de alguns cânceres esses tratamentos podem cursar de forma lenta ou até mesmo não terem resultados positivos, visto que depois de um tempo quando cessado a terapia o câncer retorna. Essas células tronco tem poder de auto renovação e além de serem usadas para a finalidade terapêutica, por um processo fisiopatológico elas podem mudar o curso natural na qual essas células deveriam seguir e tornam-se células tronco cancerosas. Tanto as células tronco cancerígenas quanto as células tronco normais compartilham de características

semelhantes, sendo diferidas apenas pela capacidade que uma tem de formar tumores quando transplantadas em animais, característica essa que células tronco normais não possuem. Mediante essas informações estudos apontam que essas células podem estar relacionadas com a capacidade de um tumor fazer metástase, de estarem envolvidas na ineficácia de um tratamento quimioterápico e ainda serem a fonte de todas as células presente em um tumor (DAS; ISLAM; LAM, 2020).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As terapias utilizando células tronco tem grande potencial de serem a resposta que muitos estudiosos procuram para que de fato encontrem um tratamento ou até mesmo a cura de algumas doenças que atualmente são enigmas não desvendados. E o câncer se encaixa perfeitamente nessa busca sem resposta no momento presente. As pesquisas caminham a passos lentos a fim de entenderem o mecanismo das neoplasias malignas e de fato conseguirem uma terapêutica eficaz para combater essas patologias, atualmente o uso de células tronco mesenquimais utilizado como tratamento tem se mostrado como efeito tumorocida, mas também se mostrou que esse mesmo tratamento tem ajudado alguns canceres na progressão do tumor. A partir dessa informação é correto afirmar que ainda se tem um longo caminho a percorrer até a obtenção das perguntas sem resposta que a ciência tanto busca desvendar.

REFERÊNCIAS

BABAEI, G.; AZIZ, S.; G.; JAGHI, N.; Z.; Z. EMT, cancer stem cells and autophagy; The three main axes of metastasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Volume 133, 2021,110909, ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110909>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S075333222031101X>. Acesso em: 02 nov. 2022.

BARTHOLOMEW, A.; STURGEON, C.; SIATSKAS, M.; FERRER, K.; MCINTOSH, K.; PATIL, S. et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. **Exp Hematol**. v.30, n.1, p.42–48. 2002. Disponível em: [https://www.exphem.org/article/S0301-472X\(01\)00769-X/fulltext](https://www.exphem.org/article/S0301-472X(01)00769-X/fulltext). Acesso em: 02 nov. 2022.

DAS, P.K.; ISLAM, F.; LAM, A.K. The Roles of Cancer Stem Cells and Therapy Resistance in Colorectal Carcinoma. **Cells**. V. 3, n.9, p.1392. 2022 doi: 10.3390/cells9061392. PMID: 32503256; PMCID: PMC7348976. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7348976/>. Acesso em: 04 nov. 2022.

O USO DE TERAPIA CELULAR NA MEDICINA VETERINÁRIA

Fernando Cardoso (graduando em medicina veterinária na UFPI)

INTRODUÇÃO:

A terapia celular é uma das áreas da medicina veterinária onde as pesquisas mais avançaram nos últimos anos, motivados, sobretudo, pelo aumento do número de animais nos lares acompanhados pelo aumento da expectativa de vida dos mesmos, sobretudo os de companhia, fazendo surgir doenças que apresentavam difícil ou nenhum tratamento até então, desse modo, a terapia celular passou a representar a última fronteira do conhecimento como forma de se buscar a cura para essas novas enfermidades.

As CTs são células indiferenciadas cuja principal característica é sua capacidade de auto-renovação além de apresentarem a capacidade de se dividirem indefinidamente e de produzirem, ao menos, um tipo celular altamente especializado. (SILVA et al., 2009; FAGANELLO et al., 2009).

As MSCs podem ser isoladas dos mais diversos tipos de tecidos como a polpa do dente, a medula óssea, o sangue periférico, o tecido adiposo, etc, sendo que aquelas provenientes do tecido adiposo tendem a ser as mais utilizadas devido a maior facilidade de coleta e da maior quantidade de amostras que se pode coletar sem que isso traga riscos para o paciente ou doador. (ALVES, et al., 2010).

METODOLOGIA:

Estudo baseado em pesquisa bibliográfica através artigos científicos, revistas especializadas e publicações que tragam resultados, possibilitando a avaliação da utilização de CTs como ferramenta à disposição da clínica na medicina veterinária.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As CTs apresentam diferentes origens podendo ser classificadas em: embrionárias quando provém do estagio inicial do embrião; adultas quando são obtidas de tecidos de estágios mais avançados do desenvolvimento, como o cordão umbilical ou o tecido adiposo. Já quando se trata da plasticidade, as CTs podem ser classificadas em: totipotentes, que correspondem à fase do embrião recém-formado; pluripotentes, que podem gerar todos os tipos celulares do indivíduo adulto; e multipotentes, que apresentam uma capacidade limitada de formar tipos celulares.

Atualmente as MSCs são o tipo celular mais estudado na terapia celular para medicina veterinária justamente devido a sua plasticidade, pois dependendo do “nicho” em que forem inseridas, podem dar origem a quaisquer tipos celulares, e à facilidade de coleta, pois podem ser encontradas em todos os tecidos adultos, como por exemplo, na medula óssea e no tecido adiposo. (SILVA et al., 2009).

O mecanismo de reparação celular utilizado pelas MSCs ainda é complexo e pouco conhecido, porém acredita-se que a plasticidade destas células se deve à interação de um conjunto de atores, onde podemos citar: os estímulos bioquímicos produzidos pelos tecidos (nichos) onde a célula foi inserida; os fatores de crescimento (FC) que são hormônios com a capacidade de regulação da atividade celular; e por fim, pode haver uma fusão celular, onde a MSC passaria a expressar o padrão gênico da célula adulta a qual se fundiu aumentando o poder de reparação tecidual (HERZOG et al., 2003; MEIRELLES et al., 2006).

Outro ponto que viabiliza e potencializa o uso das CTs é sua ação parácrina, ou seja, essas células possuem características imunomoduladoras e imunossupressoras que ampliam as possibilidades de sua utilização terapêutica. Nesse sentido, as MSCs secretam uma grande variedade de citocinas pró e anti-inflamatórias, além de fatores de crescimento e, por meio dessas moléculas bioativas, proporcionam a modulação da resposta inflamatória através da quimiotaxia, o restabelecimento do suprimento vascular e a reparação adequada do tecido lesionado, pois proporcionam o restabelecimento das condições fisiológicas dos tecidos lesionados (MONTEIRO et al. 2009).

Dentro da medicina veterinária existem basicamente dois tipos de terapia com CTs: a autóloga, onde as células usadas na transferência são provenientes de tecidos do mesmo animal e a alogênica, onde se tem o uso de células provenientes de animais doadores da mesma espécie. A escolha de cada uma se deve, principalmente, à condição clínica do paciente, pois em certos casos o paciente encontra-se bastante debilitado sendo contra-indicada a realização de procedimentos para a captação de CTs, ou ainda naqueles casos onde o paciente já é idoso, não sendo também recomendada o uso de suas próprias células nesse tipo de terapia (PEREIRA, 2008).

Atualmente, um dos usos mais frequentes de CTs na medicina veterinária é em casos de sequelas de cinomose canina. Em um estudo realizado por BRITO et al. (2010) onde foi feita a injeção de células mononucleares de medula óssea alogênicas evidenciou que o tratamento durante a fase virêmica da doença foi ineficaz, porém restou-se demonstrado que esta mesma terapia é uma opção segura e promissora para o tratamento das sequelas neurológicas desta enfermidade em cães. Em experimentos realizados por SANTOS, 2010, demonstraram que injeções heterólogas de células mononucleares de medula óssea em cães sem raça definida (SRD) com sequelas neurológicas causadas por cinomose tiveram remissão dos sinais, na maior parte dos indivíduos, não havendo formação de neoplasia após oito meses de acompanhamento, o que confirma a segurança da terapia com CTs.

Sendo assim, embora a terapia celular seja vista como promissora, não deve ser encarada como solução mágica, com o seu uso recomendado em todos os casos, evidenciando a necessidade de maiores estudos no sentido de elucidar todos os mecanismos reguladores da função celular, ao ponto de torná-la cada vez mais segura, e aqui reside a importância das pesquisas, ainda que experimentais, com o objetivo de trazer segurança ao clínico, seja na aplicação humana ou veterinária. (MONTEIRO et al. 2009)

CONCLUSÃO

A terapia com CTs tem o potencial de proporcionar uma melhor qualidade de vida aos animais, seja através da analgesia, seja diminuindo o tempo de recuperação dos mesmos, porém requer a continuidade das pesquisas para que esta se torne uma realidade cada vez mais presente em nosso cotidiano.

APOIO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ (UFPI); NUPcelt UFPI (Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células-Tronco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. R. et al. Establishment of a protocol for obtention of neuronal stem cells lineages from the dog olfactory epithelium. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 4, p. 363-372, abr. 2010.

BRITO H.F.V.; CORAT M.A.F.; SANTOS M.R. GILIOLI, R; LANCELOTTI, M; FERREIRA, F; MIN, LL. Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante alogênico de células mononucleares de medula óssea. *Revista Científica de Medicina Veterinária. Pequenos Animais e Animais de Estimação*, v.24, n.8, p.26-29, 2010.

FAGANELLO, S. B. et al. Cultivo de células - tronco mesenquimais de medula óssea, tecido adiposo e polpa dentária de lagomorfos. In: Livro de Resumos do XXI Salão de Iniciação Científica. Porto Alegre, UFRGS, 2009. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/44497>. Acesso em: 26 de out. de 2022.

HERZOG, E.L. et al. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, v.102, p.3483-3493, 2003. Disponível em: Acesso em: 29 out. 2022.

MEIRELLES, L.S. et al. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *Journal of Cell Science*, v.119, p.2204-2213, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/CpHCgGmXgBBqZv67h5G9BjK/?lang=pt>. Acesso em: 25 out. 2022.

MONTEIRO, B. S.; NETO, N. M. A.; CARLO, R. J. D. *Revista Ciência Rural Online*, Células-tronco mesenquimais: uma breve revisão, 2009.

PEREIRA, LV (2008). A importância do uso das células-tronco para a saúde pública. *Ciência e Saúde Coletiva*, 3: 7-14.

SILVA, M. V. M.; PASSOS, C. C.; NOGUEIRA, J. L.; FERREIRA, A. O.; WINCK, C. P. MIGLINO, M. A.; BRAGA, P. C. B. B. *Bioengenharia e terapia celular: uma realidade atual*. XXXVI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Anais... Porto Seguro/BA, 2009.

SANTOS, M. Neoplasia causada por injeção de células mononucleares de medula óssea jovens em camundongos idosos. 2010. Dissertação(Mestrado em Fisiopatologia Médica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/10183/80498/000902169.pdf?>. Acesso em: 25 de out. de 2022.

PRODUÇÃO DE BIOFILMES A BASE DE QUITOSANA E CARACTERIZAÇÃO DO IN VITRO COM POTENCIAL USO NA REGENERAÇÃO DA PELE

Gláucio Luciano da Silva (*Discente graduação, Instituto Federal do Piauí*)¹, Eglésia Rodrigues Leite Fernandes (*Discente mestrado, Universidade Federal do Piauí*)², Alex Levy da Silva Sousa (*Discente graduação, Instituto Federal do Piauí*)¹, Haroldo Reis Alves de Macêdo (*Professor, Instituto Federal do Piauí*)³, Dayseanny de Oliveira Bezerra (*Orientadora, Universidade Federal do Piauí*)

INTRODUÇÃO

O termo biomaterial é muito amplo, e vem sendo utilizado de diferentes formas em pesquisas científicas mediante a sua vasta aplicação e funcionalidade em diferentes áreas da saúde, seja ela humana ou animal (KUNDU, 2014; PIRES, 2015). A quitosana, dentre os biomateriais sintetizados, tem ganhado destaque nas pesquisas científicas, uma vez que apresenta inúmeras características vantajosas como sua fácil aplicabilidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade, (AZEVEDO et al., 2007). Além de características, como a ausência de toxicidade e ação contra bactérias, fungos e vírus (ÁVILA, 2012). A quitosana é um polímero obtido pelo processo de desacetilação da quitina (SILVA, 2017), este, é um polissacarídeo abundante na natureza, encontrada no exoesqueleto de diversos invertebrados e na parede celular de algumas algas, fungos e leveduras (KMIEC, 2017). Além de todas as propriedades intrínsecas que a quitosana possui, ela age proporcionando a interação com a matriz celular, mostrando ser um relevante constituinte de biomateriais para tratamento de ferimentos, pele, ossos e cartilagens, e por ser um polímero bioativo, atua favorecendo a síntese de colágeno e acelerando a cicatrização de lesões (DALLAN, 2007). O objetivo dessa pesquisa consistiu em avaliar a biodegradação e absorção *in vitro* de biomembranas à base de quitosana para sua caracterização para potencial uso na cicatrização de feridas cutâneas.

METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no Instituto Federal do Piauí (IFPI), *campus* Paulistana e *campus* Picos. As membranas foram preparadas em duas fases utilizando a quitosana em pó diluída para preparo de biofilmes com quitosana pura. Primeira fase : a quitosana em pó foi diluída em ácido láctico em agitação por 24 horas, e filtrado em filtro de nylon e milipore 0,45µm (Solução 1). Para o preparo da membrana a base de quitosana, após a filtração, essa solução foi vertida em placa de Petri e colocada em estufa a 50°C para secagem por 24 horas. Em seguida neutralizada com Hidróxido de sódio a 5% e secas em temperatura ambiente por 24 horas. Após a confecção, foi realizado os testes de análise macroscópica e microscópicas dos biofilmes (homogeneidade, coloração e textura) absorção de líquidos *in vitro* e biodegradação em fluido corporal sintético, por meio de pesagens consecutivas das membranas, antes de incorporada ao fluido (seca), tempo 0 após imersão em fluido e a cada hora nas primeiras 24 horas (tempo 1 ao 24), 48h, 72h até o dia 30 consecutivo utilizando balança de precisão modelo:M214. A partir da determinação do peso seco e úmido, foram realizadas as pesagens sequenciais. Inserção do biomaterial na solução (momento 0), a cada hora até completar 24 horas e novamente após 48 e 72 horas, dia 5 ao dia 30 do momento 0. Antes de cada pesagem as membranas eram secas com papel toalha para retirada do excesso de água. Neste mesmo ensaio, foi

analisado o potencial de biodegradação do biomaterial por observação de diminuição do peso, conformação e soltura de porções do mesmo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

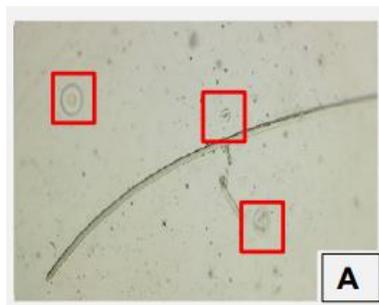
As membranas de quitosana apresentaram formato circular de aproximadamente 5cm de diâmetro, sua estrutura firme possibilitou fracioná-las em partes menores e circulares de aproximadamente 1,5cm de diâmetro para as análises *in vitro* (figura 1). Todas as membranas apresentaram aspecto homogêneo, flexível, transparente, brilhante e liso.

Figura 1 – Filmes de quitosana (membrana inteira e fracionada)



A avaliação por meio de imagem microscópica demonstrou homogeneidade entre as superfícies da amostra (Figura 2). Foram observados pequenos círculos sem coloração, que sugere a presença de bolhas de ar, conforme descrição relatada por Pereira et al. (2021).

Figura 2 Análise de imagem A=(MQP)



Os filmes de quitosana quando imersos na solução de saliva artificial obtiveram coloração amarelada e transparente, com textura flexível, íntegra e lisa. Todas as amostras apresentaram formato convoluto assim que a entraram em contato com o líquido (Figura 3). Não foi observada soltura de porções de nenhuma das amostras dentro dos 30 dias de degradação *in vitro*. A forma convoluta que as amostras assumiram pode ser explicado pela hidroflicidade natural que a quitosana possui (LEMES et al., 2016).

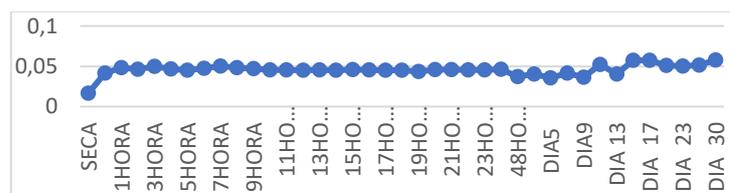
Figura 3 – Filmes de quitosana após primeiras horas de ensaio *in vitro*.



Na figura 4 são apresentados os valores obtidos pela degradação *in vitro* ao longo do tempo em relação ao peso inicial úmido 0. Os filmes puros (MQP) apresentaram baixa variação nos valores

em todo período experimental. Ao final das pesagens (dia 30), todas as amostras obtiveram peso menor em relação ao peso inicial, indicando que houve degradação dentro do período observado. O resultado da análise demonstrou que o biomaterial de quitosana permanece o período do tempo médio da cicatrização de uma ferida de acordo com o trabalho de Queiroz, (2020) que, no seu estudo, o tempo médio da cicatrização do seu grupo experimental foi de 18,2 dias, enquanto que no grupo controle usando soluções fisiológicas, o tempo de cicatrização foi de 29,3 dias, ou seja, tempo necessário do biomaterial desse estudo se degradar em material biológico, sendo opção para o uso em feridas.

Figura 4- Gráfico de degradação *in vitro* das amostras (MQP)



Já Howling, (2001), relatou que a quitosana foi vantajosa em todas as fases de reparo tecidual de animais. No entanto, esse resultado não está de acordo com os resultados obtidos por Martins (2013), onde o tempo médio de cicatrização de feridas induzidas em equinos foi superior, ou seja, no grupo controle (solução de cloreto de sódio 0,9%) o período médio de cicatrização para as feridas do foi de 76,1 dias (mínimo=42; máximo=98) e, para as feridas do grupo tratado experimental (membrana de quitosana), foi de 80,5 dias (mínimo=56; máximo=98).

O ensaio de absorção em solução de saliva artificial demonstrou que as membranas em todas as concentrações utilizadas obtiveram pesagem superior à membrana seca, portanto com caráter hidrofílico. Na degradação *in vitro*, ao final das pesagens (dia 30), todas as amostras, obtiveram peso menor em relação ao peso inicial (Úmido 0), indicando que houve degradação dentro do período observado.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, as biomembranas a base de quitosana, mostrou resultados satisfatórios de degradabilidade e absorção em testes *in vitro* utilizando material biológico de saliva artificial, além de possibilitar regeneração segura e rápida do tecido. Além de ser cada vez mais promissor seu uso no tratamento de feridas cutâneas, auxiliando na regeneração tecidual, adequando-se bem ao corpo, assim como uso de base para liberação controlada de fármacos, proteção contra microrganismos patogênicos, além de baixo custo na produção do biomaterial.

Contudo, faz-se necessário novos estudos através de estudos *in vitro* e *in vivo* para otimizar o material e expandir o uso do mesmo.

APOIO: Agradeço ao Programa de Apoio e Pesquisa Estruturação e Reestruturação Laboratorial do INSTITUTO FEDERAL DO PIAUI (PROAGRUPAR/IFPI).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEMDAROĞLU C, DEĞİM. Z, ÇELEBI N, ZOR F, ÖZTÜRK S, ERDOĞAN D (2006) **An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor.** *Burns* 32(3):319-327.

ÁVILA, A.; Bierbrauer, K.; Pucci, G.; López-González, M.; Strumia, M.; **J. Food Eng.** 2012, 109, 752.

AZEVEDO, V.V.C et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processo**, Campina Grande-PB, v. 23, p. 27-34, dez. 2007.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE MEMBRANAS
DE QUITOSANA PARA APLICABILIDADES BIOMÉDICAS**

Marciela Lopes Ferreira¹ (Discente pós-graduação - Mestrado em Engenharia de Materiais-IFPI)¹, Marina de Oliveira Cardoso Macêdo² (Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais do Instituto Federal do Piauí), Wandemberg Rocha Freitas³ (Professor do IFPI- Paulistana), Leandro Josuel da Costa Santos⁴ (Discente pós-graduação- Doutorado em Ciências e Engenharia de Materiais –UFPB), Dayseanny de Oliveira Bezerra⁵ (Orientadora, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais do Instituto Federal do Piauí).

Introdução

A designação do termo biomaterial ocorreu na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982, que definiu biomaterial como qualquer substância ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente ou como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido (SPEZZIA, 2021).

As biomembranas são compostos obtidos através de bioprodutos e apresentam significativa eficácia, acelerando o processo de adesão e desenvolvimento celular constantes, por este fato, têm sido muito utilizadas com fins curativos para o tratamento de feridas e queimaduras (NETA et al, 2019).

A quitosana tem sido usada na produção de membranas, biofilmes, géis, biogéis, nano e micropartículas, fato possível, devido sua biodegradabilidade e biocompatibilidade comprovada por meio de estudos como esse, segundo Souza (2015) essas membranas quando combinadas a compostos naturais apresentam elevada estabilidade, biocompatibilidade e adequada estrutura para adesão e proliferação celular quando expostos a culturas de fibroblastos e queratonóticos, favorecendo a regeneração da pele.

De acordo com Oliveira (2019) A medicina regenerativa visa a regeneração de tecidos ou órgãos danificados, a fim de restaurar suas funções. Dessa forma, a engenharia tecidual combina o uso de células-tronco com biomateriais, naturais e/ou sintéticos, com o intuito de mimetizar os tecidos de origem biológica. Desse modo, a pesquisa teve como objetivo a produção e caracterização físico-química de biomembranas à base de quitosana para utilização em modelos biológicos com potencial aplicabilidade para a regeneração tecidual.

Metodologia

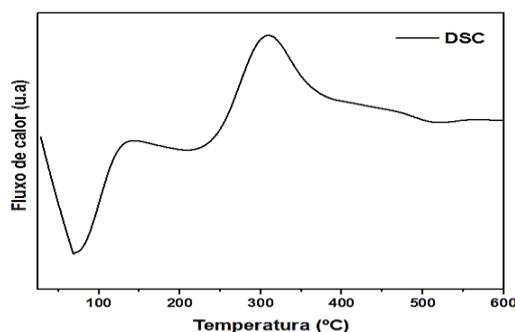
A produção da membrana de quitosana foi realizada em duas fases, primeiramente, a quitosana em pó foi diluída em ácido láctico em agitação por 24 horas, a solução foi filtrada em filtro de nylon e filtro de milipore 0,45 μ m (Solução 1). Para o preparo da membrana a base de quitosana, após a filtração, essa solução foi vertida em placa de Petri e colocada em estufa a 50°C para secagem por 24 horas. Em seguida neutralizada com Hidróxido de sódio a 5% e colocadas para secagem em temperatura ambiente por 24 horas.

As análises físico-químicas foram realizadas por meio de calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de infravermelho (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e Difração de raio-X (DRX). Para obter os espectros de absorção foi utilizado o espectrômetro IRAFFINITY-1 (*Fourier transform infrared spectrophotometer*). As análises foram realizadas na faixa do número de onda de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹. Para as curvas de TGA E DSC foi utilizado o equipamento modelo TGA 51 (*thermogravimetric analyzer*) e DSC-60, Shimadzu, na faixa de temperatura de 23 a 800°. Utilizando-se a razão de aquecimento de 10° C min⁻¹, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio, com vazão de gás da ordem de 50 ml min⁻¹, com o intuito de verificar a estabilidade térmica das biomembranas.

Resultados e discussão

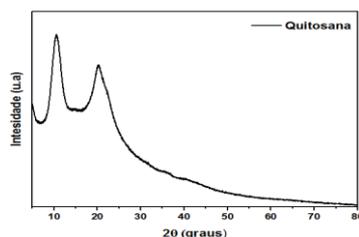
A análise físico-química da biomembrana demonstrou no teste de infravermelho bandas de absorção entre 1750 a 2500 cm⁻¹, indicando a possível presença de álcoois, fenóis, aminas primárias e secundárias, éteres, ácidos carboxílicos, semelhante aos resultados encontrados por Santos et al (2003) e Brugnetto (2001). No ensaio de TGA, houve uma perda de massa até os 200° C, uma perda significativa entre 250° e 300° C e por último uma queda acentuada entre 400°C e 650° C. De 650°C a 800° a amostra estabilizou não havendo perda de massa. A massa inicial da amostra era de 2,976 mg e a massa final ficou em 2,944 mg, perda de 9,89 % de massa.

Figura 1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) biomembrana a de quitosana



A análise de DSC da quitosana apresentou pelo menos três eventos característicos desse tipo de polímero, o primeiro evento decorrente por volta de 30 a 110°, relacionado ao um possível processo de desidratação, o pico, com características exotérmicas em uma temperatura cima de 270°C, correspondente ao processo de decomposição das cadeias poliméricas. O terceiro evento por volta de 490°C corresponde ao início da queima do material em um processo de carbonização. Os três eventos aqui identificados na calorimetria exploratória diferencial podem ser observados também na TGA.

Figura 2. Difração de raio-X da biomembrana a base de quitosana



O difratograma da membrana de quitosana pura apresentou pelo menos dois picos nas regiões entre 10 e 20 do ângulo 2° teta, apesar das características amorfas, por se tratar de um biopolímero, características dadas ao fato da organização dessas cadeias moleculares estarem menos enoveladas. Nessas regiões é possível perceber uma intensidade relativa desses picos, o que dá indícios da possibilidade de uma reorganização do material apresentando assim, também regiões com uma certa cristalinidade. Uma vez que o tratamento químico utilizado para a síntese da membrana pode possibilitar esse tipo de organização no material.

As características apresentadas acima comprovam o uso de quitosana como excipiente apresenta muitas vantagens, pois o polímero atua aumentando a solubilidade de fármacos pouco solúveis, como proteínas e peptídeos, e estabilizando as emulsões comumente empregadas no campo farmacêutico. Os usos como sistemas particulados carreadores de princípios ativos são, particularmente importantes nas terapêuticas que visam a administração de fármacos pela via oral, através das mucosas e também na administração parenteral CAMPANA (2007).

Conclusão

Com base nos resultados apresentados a membrana de quitosana apresenta alto grau de estabilidade, mantendo assim suas características físico-químicas, comprovando que apresenta potencial para ser utilizada como curativo biológico semi-permeável mantendo o ferimento seco, evitando desidratação e contaminação, conseqüentemente melhora as condições de cura.

Apoio

Agradecimentos ao Programa de apoio e pesquisa estruturação e reestruturação laboratorial do INSTITUTO FEDERAL DO PIAUI (PROAGRUPAR IFPI).

Referências bibliográficas

CAMPANA FILHO, S. P.; SIGNINI, R.; CARDOSO, M. B. Propriedades e Aplicações de Quitosana. Revista Processos Químicos, v. 1, n. 2, p. 9-20, 2 jul. 2007.

NETA, N.B.D et al. Biomembranas à base de quitosana e aplicação na cicatrização de úlceras cutâneas. Revista da FAESF, vol. 3, n. 4. p 4-10 , Out-Dez 2019 ISSN 2594 – 7125.

PARK BQ, KIM M.M. Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. In J Mol Sci.2010;11:5152-64.

SOUZA, E.E. et al. Preparação e caracterização de membranas de celulose regenerada a partir de celulose extraída de resíduos para aplicação em processo de separação. Química Nova, São Paulo. V.38.n.2, 2015.

ALVES, AL et al . Prospecção científica e tecnológica de norbixina e dapsona com ênfase na cicatrização de feridas. Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento, [S. l.], v. 11, n. 7, pág. e34411728067, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i7.28067. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/28067>. Acesso em: 7 nov. 2022.

OLIVEIRA, L.S. Viabilidade de células-tronco em diferentes biomateriais para uso na medicina regenerativa. Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

SUPLEMENTAÇÃO DE NUTRACÊUTICOS MODULADORES DE CITOTOXIDADE
EM MODELO DE SISTEMA DE CULTIVO CELULAR.

Alexandra de Siqueira Cajado Liarte (Discente/pós graduação – mestrado, Universidade Federal do Piauí¹), Airton Mendes Conde Júnior (Orientador, Ppgtair), Amanda de Oliveira Morais (Discente/graduação, Universidade Federal do Piauí), Jônatas Paulino da Cunha Monteiro Ribeiro (Discente/graduação, Universidade Federal do Piauí), Ingrid dos Santos Farias (Discente/pós graduação – mestrado, Universidade Federal do Piauí), Silvane Maria Fonseca Murts (Instituto René Rachou, Fiocruz, BeloHorizonte, MG)

Introdução

A Cisplatina é um antineoplásico citotóxico que age em células cancerígenas. Ela apresenta um amplo uso terapêutico, sendo empregadas em diversos tipos de neoplasias. A aplicabilidade clínica da cisplatina é limitada pela presença de efeitos colaterais graves de maneira dose dependente, que resultam na redução da qualidade de vida do paciente, gerando a necessidade da redução da dose ou até mesmo a interrupção do tratamento com o fármaco. Dessa forma, há o desenvolvimento de estudos do emprego de substâncias que visem reduzir os efeitos colaterais dos antineoplásicos a base de platina, entre elas, os nutracêuticos, que são suplementos alimentares que apresentam a forma concentrada do composto bioativo do alimento, excedendo as doses que poderiam ser obtidas no mesmo, apresentando propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Pesquisas apontam as potencialidades do uso de nutracêuticos na redução dos efeitos colaterais dos quimioterápicos a base de platina e a aplicabilidade de estudos por meio do modelo de cultivo celular como meio prático para analisar os efeitos dessas substâncias e no desenvolvimento de esquemas terapêuticos alternativos entre esses fármacos. Neste trabalho foi avaliado o efeito de nutracêuticos como moduladores de citotoxicidade da cisplatina em cultivo celular. Foram utilizados o fármaco Citoplax[®], além de três nutracêuticos: L-Prolina, L-Triptofano, L-Serina.

Metodologia

Foi utilizado o fármaco antineoplásico Citoplax[®], que tem como princípio ativo a cisplatina na concentração de 1mg/ml (em parceria com a Dra. Cristiane Reis – Oncocenter[®], Teresina, PI – Brasil). Foram investigados a interação do fármaco com 3 diferentes tipos de nutracêuticos: L-Prolina (Êxodo científica, Sumaré, SP – Brasil); L-Triptofano (Inlab, São Paulo, SP – Brasil); L-Serina (Merck[®]). Todos os produtos foram armazenados em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Os nutracêuticos foram

solubilizados no momento do experimento, enquanto o Citoplax® foi utilizado em até 14 dias após preparo.

Foram utilizados fibroblastos da linhagem L929 (ATCC CCL-1). As culturas foram mantidas em estufa 37°C, 5% CO₂ em garrafas de 25 cm² contendo meio RPMI-1640 (INLAB Diagnóstica), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2mM de GlutaMAX (Gibco™). As culturas foram mantidas até que as células atingissem confluência de 80%, com trocas de meio a cada 2 dias. As células foram tratadas com Tripsina 0,25% (Gibco™) para descolamento da superfície de aderência; contadas e dispersadas em meio para repique, congelamento ou semeio de placas para experimentação.

Células L929 foram semeadas em placas de 96 poços na quantidade de 4 x 10³ células/poço em 160µL de meio, incubadas a 37°C por 24 a 72 horas. Concentrações de cisplatina foram adicionadas aos poços, sempre no volume de 20µL e novamente incubadas a 37°C por 48 horas. Após a interação do fármaco com a cultura, 20µL de alamarBlue™ foi adicionado a cada poço (10% concentração final) e reincubadas a 37°C por 8 a 12 horas. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro (LMR FLEX UV-VIS i – Loccus®, Cotia, SP – Brasil) nos comprimentos de onda de 570 e 630 nm. Como controles do experimento foram utilizados o meio de cultura (branco), meio de cultura com alamarBlue™ (estado oxidado) e cultura com alamarBlue™ sem fármaco (crescimento máximo).

Os ensaios foram realizados de forma similar aos de determinação do IC₅₀. Uma única concentração correspondente ao IC₅₀ e diferentes nutracêuticos diluídos em meio na concentração de 5µg/mL (concentração final no poço: 0,5µg/mL). Também foram adicionados os controles: cultura e fármaco (IC₅₀) sem nutracêutico, cultura e nutracêutico sem fármaco.

Todas as variáveis de teste e controle foram avaliadas nas culturas em triplicatas ou hexaplicatas. Foi utilizado um modelo de regressão sigmoidal conhecido como “dose-resposta” (Decuypere et al., 2005; Seifert & Croft, 2006) disponível no programa Microcal™ Origin™, versão 5.0 (Microcal software Inc, Northampton, MA, EUA).

Resultados e discussão

O fármaco selecionado para estudo foi a cisplatina por apresentar estabilidade e facilidade de aquisição e uso, além de ser amplamente utilizado em diversos tipos de câncer e ser relativamente carente de estudos voltados para a interação com nutracêuticos. É esperado que a interação cisplatina – nutracêuticos seja dose-dependente, dessa forma para avaliar o efeito modulador dos nutracêuticos na citotoxicidade da cisplatina foi necessário inicialmente determinar o IC₅₀ do fármaco considerando o modelo experimental selecionado nesse estudo e descrito na metodologia. O valor médio de IC₅₀ calculado foi de 3,0µg/mL (aproximadamente 10 µM), porém deve-se destacar que considerando a variação experimental, esse valor está entre 2,6 µg/ml e 3,7 µg/ml. Da mesma forma, a concentração média de 3,0µg/ml calculada corresponde à concentração inibitória do crescimento entre 40% e 60% da cultura de células.

A partir da determinação do IC₅₀ foi possível investigar a modulação do crescimento celular pelos nutracêuticos na presença de cisplatina. No presente trabalho foram avaliados três nutracêuticos: Prolina, Serina e Triptofano, na qual a seleção dos compostos se deu pelo fácil acesso, solubilidade em meio de cultura e pouca ou nenhuma interferência colorimétrica.

O efeito dos nutracêuticos sobre as culturas de células sem fármaco foram utilizadas apenas como controle. É possível observar considerando o desvio padrão dos resultados, o aminoácido suplementado triptofano apresentou crescimento parecido ao da cultura controle não suplementada com nutracêuticos. Já os aminoácidos prolina e serina apresentaram redução no crescimento, discretamente superior a 20% em relação ao controle. Esses resultados sugerem que a concentração de nutracêuticos é segura para propostas de triagem, onde a avaliação inicial do efeito é realizada com doses altas do produto em teste.

Observa-se ainda, que apenas o triptofano apresentou crescimento significativo em relação ao controle contendo o fármaco, porém sem suplementação com nutracêuticos. Entre os demais nutracêuticos, não foi observado efeito sinérgico com a cisplatina, uma vez que o crescimento celular está na faixa de variação do cultivo contendo apenas o fármaco.

Estudos recentes demonstram a ação eficaz do triptofano em aumentar a síntese de proteínas em células da glândula mamária bovina in vitro, estimulando os genes, proteínas e vias relacionadas à síntese de proteínas envolvidas na síntese de energia e proteína. E além de fornecer nutrientes necessários para a síntese de proteínas, também regula a expressão de genes envolvidos na síntese de proteínas do leite (CONEJOS et al., 2021). Someya et al. (2021) demonstrou que o triptofano é indispensável para a sobrevivência e proliferação de células-tronco pluripotentes humanas (hPSCs).

Conclusão

Dessa forma conclui-se que apenas o triptofano apresentou crescimento significativo em relação ao controle contendo o fármaco. A interação fármaco – nutracêuticos tem sido bastante investigada e estudos com os mais diversos modelos experimentais tem confirmado seu potencial uso na quimioterapia do câncer.

Palavras-chave: Cisplatina, Cultivo celular, Nutracêuticos.

Apoio: Universidade Federal do Piauí, LABCIM, Oncocenter, Fiocruz e GPBio3

Referências:

CONEJOS, J. R.V.; GHASSEMI, N.J.; KIM, J.E.; MOON, J.O.; LEE, J.S., LEE, H.G. Supplementing with l-tryptophan increases medium protein and alters expression of genes and proteins involved in milk protein synthesis and energy metabolism in bovine mammary cells. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 5, p. 2751, 2021.

SOMEYA, S.; TOHYAMA, S.; KAMEDA, K.; TANOSAKI, S.; MORITA, Y.; SASAKI, K.; FUKUDA, K. Tryptophan metabolism regulates proliferative capacity of human pluripotent stem cells. **Isience**, v. 24, n. 2, p. 102090, 2021.

RAUDENSKA, M. et al. Unexpected therapeutic effects of cisplatin. **Metallomics: integrated biometal science**, v. 11, n. 7, p. 1182–1199, 2019.

DASARI, S. et al. Pharmacological effects of cisplatin combination with natural products in cancer chemotherapy. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 3, p. 1532, 2022.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

TERAPIA COM CÉLULAS-TRONCO DIRECIONADA AO TRATAMENTO DA
ARTRITE REUMATOIDE

Camila Emanuelle da Silva Ferreira (Discente em ciências farmacêuticas – UNINASSAU¹),
Aldenora Maria Ximenes Rodrigues (Orientador, Doutora em Biotecnologia pela Rede
Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO))

Introdução

A artrite reumatoide é a doença reumática inflamatória mais comum, caracterizada por sinovite progressiva, artropatia destrutiva e complicações sistêmicas. Afetando cerca de 0,5% a 1,0% das pessoas globalmente, sendo que as mulheres apresentam maior risco para essa enfermidade, principalmente na população com idade entre quarenta a sessenta anos (FERRAZ; SIQUEIRA, 2022). Sem diagnóstico e tratamento oportunos, pode eventualmente levar à incapacidade e morte prematura. Sendo que a minoria dos pacientes pode alcançar a remissão da doença e a remissão persistente da terapia (KUCHARZ *et al.*, 2018).

As opções de tratamento padrão para a artrite reumatoide são o uso clínico de drogas antiinflamatórias não esteróides (AINEs), anti-reumáticas (DMARD) e tratamento hormonal, que geralmente falham em fornecer um resultado terapêutico a longo prazo e, em muitos casos, causam eventos adversos complexos, levando à descontinuação ou reajuste do tratamento. Até o momento, o princípio terapêutico utilizado é controlar a inflamação das articulações na tentativa de aliviar a dor do paciente, além da busca por controlar a progressão da doença e prevenir a destruição das articulações, promovendo a reparação e melhora da função articular (MIAN *et al.*, 2019).

Vários novos agentes biológicos, bem como novas estratégias de tratamento vêm sendo testadas, com melhorias no prognóstico dos pacientes de forma significativa. Entretanto, os tratamentos disponíveis apresentam limitações e, para alguns pacientes, o efeito curativo não é satisfatório. Sendo assim, é urgente explorar novos métodos terapêuticos (ALCARAZ *et al.*, 2022).

A terapêutica com células-troncos no tratamento da artrite reumatoide constitui-se como uma via promissora, uma vez que possuem propriedades imunossupressoras, regulando a proliferação e

¹ Ciências farmacêuticas - Centro Universitário Maurício de Nassau - CAMPUS REDENÇÃO, Teresina, PI.

função das principais populações de células imunes, incluindo células T, células B e células *natural killer* (NK), bem como a função de reparação tecidual (KIM et al., 2018).

Nesse sentido, o objetivo desta revisão é expor informações clínicas sobre a utilização de células-tronco como estratégia terapêutica na artrite reumatoide.

Desenvolvimento

Percurso metodológico

A revisão narrativa foi realizada em outubro de 2022, por meio de buscas na base de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) com uso dos descritores “artrite reumatoide” e “transplante de células-tronco”. Essa busca inicial resultou em 314 artigos.

Os critérios de inclusão aplicados foram: artigos do tipo observacionais e/ou estudos clínicos, no idioma inglês, publicados no recorte temporal de 2017 a 2022, utilizando como filtro “assunto principal” os termos “Transplante de Células-Tronco Mesenquimais”, “doenças autoimunes” e “artrite reumatoide”. Os critérios de exclusão utilizados foram artigos incompletos.

Após aplicação dos filtros de inclusão e exclusão resultaram 8 artigos, que foram lidos e averiguados na íntegra.

Análise de dados

Dos 8 artigos selecionados e analisados, 1 era observacional e 7 eram estudos clínicos, sendo que houve uma média de 63,1 pacientes por estudo. Os resultados apontaram informações sobre o uso de células-tronco mesenquimais no tratamento de artrite reumatoide, bem como a adesão dos pacientes e o comparativo com outros tratamentos dessa doença autoimune.

Células-tronco mesenquimais no tratamento da artrite reumatoide

A terapia com células-tronco mesenquimais vem sendo utilizada na clínica há anos, entretanto o mecanismo de sua ação terapêutica ainda não é totalmente compreendido. A literatura aponta que há uma inibição da resposta inflamatória, com redução de TNT-alfa, bem como auxiliam citocinas derivadas de macrófagos a desempenhar um papel no reparo tecidual (BIAN *et al.*, 2018).

Além de atuar na resposta inflamatória, desempenham um papel importante na diferenciação de células, pois agem na diferenciação de células danificadas (como osteócitos e condrócitos), desempenhando um papel direto na reparação; e na regulação imunológica, agindo na resposta imune mediada pelas células T, inibindo a produção e função de várias células imunes inatas para desempenhar um papel anti-inflamatório, objetivando regular a imunidade e resistir a lesões teciduais (VIEIRA *et al.*, 2019). Também regulam a resposta adaptativa e inata através da indução de CD4+, CD25+ e FoxP3, bem como suprimem o amadurecimento das células dendríticas e de células NK (KIM *et al.*, 2018).

Outro fator encorajador do uso de células-tronco na terapêutica da artrite reumatoide, é que associada a medicamentos já utilizados, os pacientes relatam uma melhora na funcionalidade e qualidade de vida, bem como uma redução na dependência de esteroides após o transplante de células-tronco mesenquimais (JAIME-PÉREZ *et al.*, 2022). O tratamento em conjunto também aliviou

os efeitos colaterais dos medicamentos, como o Adalimumabe e, conseqüentemente, contribuiu para a efetividade do tratamento convencional (KARAMINI *et al.*, 2020).

Em relação a segurança, essa terapia mostrou-se segura, com os índices de mortalidade relacionados ao transplante de 0%, sendo que metade dos pacientes foram auto-enxertados em ambiente ambulatorial (KARAMI *et al.*, 2020). Os indicadores laboratoriais de rotina apresentam-se sem alteração significativa durante o pré e o pós-tratamento, com testes de função hepática e renal considerados dentro da normalidade (QI *et al.*, 2020).

No entanto, a eficácia clínica atual do transplante de células-tronco mesenquimais ainda apresenta diferenças individuais significativas (HE *et al.*, 2020), com alterações não esclarecidas nos resultados de Proteína C Reativa (PCR) e na velocidade de hemossedimentação (YANG *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019).

Considerações finais

A utilização de células-troncos como estratégia terapêutica na artrite reumatoide induz a inibição da inflamação, bem como regula a resposta imune e processos reparatórios. Ainda existem lacunas quanto ao mecanismo de ação específico, sendo necessárias pesquisas futuras para uma melhor compreensão biológica que possa elucidar de maneira clara a atuação das células-tronco mesenquimais no tratamento da artrite reumatoide.

Referências bibliográficas

ALCARAZ, María José; GUILLÉN, María Isabel. Cellular and Molecular Targets of Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Rheumatoid Arthritis. **Stem Cells Translational Medicine**, 2022.

BIAN, Jun et al. N methyl pyrrolidone promotes ankle fracture healing by inhibiting inflammation via suppression of the mitogen activated protein kinase signaling pathway. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 15, n. 4, p. 3617-3622, 2018.

DE OLIVEIRA FERRAZ, Gabriela Cesar; DE SIQUEIRA, Emílio Conceição. Uma análise sobre as características da Artrite Reumatoide: revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Médico**, v. 13, p. e10707-e10707, 2022.

HE, Xiao et al. Combination of human umbilical cord mesenchymal stem (stromal) cell transplantation with IFN- γ treatment synergistically improves the clinical outcomes of patients with rheumatoid arthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 79, n. 10, p. 1298-1304, 2020.

JAIME-PÉREZ, José Carlos et al. Autologous ATG-free hematopoietic stem cell transplantation for refractory autoimmune rheumatic diseases: a Latin American cohort. **Clinical Rheumatology**, v. 41, n. 3, p. 869-876, 2022.

KARAMINI, Alexia et al. Therapeutic potential of mesenchymal stromal stem cells in rheumatoid arthritis: a systematic review of in vivo studies. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 16, n. 2, p. 276-287, 2020.

KIM, Kyoung-Woon et al. Epigenetic modification of mesenchymal stromal cells enhances their suppressive effects on the Th17 responses of cells from rheumatoid arthritis patients. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2018.

UMA REVISÃO SOBRE TERAPIA CELULAR EM CÃES E GATOS ACOMETIDOS COM DOENÇA RENAL CRÔNICA

Iara Dalva Pereira Costa (Discente de medicina veterinária, UFPI), Kamila Ferreira Nogueira (Discente de medicina veterinária, UFPI), Maria Gabrielle Matias Lima Verde (Discente de medicina veterinária, UFPI), Ronalde Cesar Pereira Filho (Discente de medicina veterinária, UFPI)

INTRODUÇÃO

O avanço na medicina veterinária proporcionou aos animais aumento na perspectiva de vida, contudo, com a idade avançada, os pacientes são mais vulneráveis à doenças degenerativas e crônicas. Dentre elas, a doença renal crônica é uma das doenças que mais acometem cães e gatos na rotina veterinária (BARTGES, 2012). Consiste em lesão renal, com perda progressiva e irreversível da função dos rins, caracterizada pela inflamação túbulo-intersticial, atrofia tubular e fibrose intersticial (CHAKRABARTI et al., 2013; ROMÃO JUNIOR, 2004). Apesar de comum, até o momento, não existe um tratamento definitivo para DRC ou a possibilidade de transplante. Assim, pesquisadores interessados em curar ou retardar de forma significativa a progressão da doença, iniciaram estudos sobre o uso da terapia com células tronco, pois é sabido da capacidade destas de proliferação, auto renovação, diferenciação em linhagens específicas de células, liberação de mediadores imunológicos e de reparação de tecidos lesados. (CHAMBERLAIN et al., 2007; SILVA, 2011).

DESENVOLVIMENTO

Esta revisão foi executada baseada em 4 bancos de dados bibliográficos – PubVet, Revista Científica Medicina Veterinária (UFRPE), Brazilian Journal of Development, Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP. Os artigos selecionados foram publicados entre 2017 e 2022, escritos em português. As palavras-chave utilizadas são: doença renal crônica, canino, felino, células-tronco, veterinária. A escolha foi realizada a partir de artigos que abordam a doença renal crônica em caninos e felinos, os quais foram submetidos a terapia com células tronco originados do tecido adiposo e da placenta canina. Os pacientes foram diagnosticados baseado na anamnese, exame físico, bioquímica sérica (creatinina e ureia), urinálise e exames de imagem. Com critérios de inclusão pacientes caninos e felinos com azotemia renal persistente, alteração na morfologia renal detectado por ultrassom, no estágio 2 e 3 da doença renal crônica. Foram excluídos do estudo os animais com comorbidades como endocrinopatias, insuficiência cardíaca e doenças neurológicas, além de animais que já haviam sido tratados anteriormente com células tronco.

A terapia com células-tronco proporciona bons resultados para o tratamento da doença renal crônica e mostra-se promissora na clínica de pequenos animais. A administração em todos os casos foi por via endovenosa por ser a via menos invasiva, pouco traumática e de fácil execução. Entretanto, o uso terapêutico de células-tronco embora seguro, não está isenta de efeitos adversos (MALARD et al., 2020; MELO et al., 2021; NASCIMENTO, 2019; SANTOS et al., 2019). As células utilizadas são classificadas de acordo com capacidade de se aderir ao plástico, potencial de se proliferar e a capacidade de se diferenciar. Na pesquisa de Brazilian Journal of Development, os 2 felinos com DRC, receberam de um gato saudável as células tronco a partir do tecido adiposo por via endovenosa. Foi

demonstrado redução dos valores de creatinina sérica. O primeiro felino apresentava creatinina 5,76 mg/dL e após 3 aplicações de célula tronco, houve redução para 2,73 mg/dL, assim como o segundo paciente que apresentou 1,6 mg/dL ao final das 3 aplicações, redução de 0,2. (MELO et al., 2021). Estes valores capacitam a afirmação de que a terapia com as células tronco é capaz de atrasar a progressão da doença (SILVA et al., 2020). Além dos valores séricos, ambos os animais apresentaram aumento de apetite durante o tratamento, com retirada, até mesmo, da sonda esofágica devido a melhora. De acordo com Santos et al. (2019), durante o estudo realizado em 12 cães com DRC, após o uso de células progenitoras adultas multipotentes alogênicas obtidas do tecido adiposo de cães jovens no momento da castração, evidenciou redução sérica de ureia e creatinina, apesar de uma leve elevação no valor nos índices do cão 5, e após os 90 dias a estabilidade dos índices é mantida. A pesquisa feita por Malard et al., 2020, estudou 11 animais (cães e gatos) que receberam células tronco derivadas de tecido adiposo, e demonstra que os valores de creatinina sérica reduziram, bem como a diminuição da frequência de vômitos e aumento de apetite para maioria dos animais estudados. (MALARD et al., 2020). Em contrapartida, células-tronco amnióticas no tratamento de DRC em cães apresentou resultados poucos significativos. O estudo realizado foi feito em 14 animais, os quais receberam células tronco amnióticas com aplicação endovenosa, porém apenas 7 foram analisados no período de 60 dias. 2 alcançaram melhora clínica e estabilidade, 2 animais melhoraram nos primeiros 30 dias e, em seguida, recidivaram os sinais clínicos e, após 7 dias dois animais tiveram melhora, mas em seguida houve piora do quadro clínico. Ademais, alguns animais apresentaram trombocitopenia e um quadro de anemia normocítica normocrômica. Valores como creatinina, fosforo e ureia se mantiveram e 8 animais manifestaram um quadro de hipoalbuminemia compatível com a proteinúria apresentada em doenças renais crônicas (GOMES, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das pesquisas citadas, é possível concluir que os resultados da terapia com células tronco é variável e pode ser favorável, visto que uma parte dos pacientes apresentaram significativa melhora ou estabilidade da doença. Contudo, uma parte dos animais apresenta reação adversa e até óbito. Dessa forma, é necessário que novos estudos sejam realizados com diferentes variáveis, pois apesar da evolução das pesquisas, não é possível evidenciar a garantia de segurança. Além disso, de acordo com essa revisão, se comparar a terapia celular originada do tecido adiposo e da placenta canina, os resultados desta, primeira evidencia mais chance de melhorar a qualidade de vida do paciente.

REFERÊNCIAS:

BARTGES, J. W. **Chronic Kidney Disease** in Dogs and Cats. Ed. Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice. v. 42, n. 4, p. 669-692. Philadelphia, 2012.

CHAKRABARTI, S.; SYME, H. M.; BROWN, C. A.; ELLIOTT, J. **Histomorphometry of Feline Chronic Kidney Disease and Correlation With Markers of Renal Dysfunction**. Rev. Veterinary Pathology, v. 50, n. 1, p. 147-155. Londres, 2013.

CHAMBERLAIN, G.; FOX, J.; ASHTON, B.; MIDDLETON, J. **Concise Review: Mesenchymal Stem Cells: Their Phenotype, Differentiation Capacity, Immunological Features, and Potential for Homing**. Rev. Stem Cells. v. 25, n. 11, p. 2739-2749. Oswestry, 2007.

SILVA, L. C.; SABINO, E. G.; BABICSAK, V. R.; VULCANO, L. C.; MACHADO, V. M. V.; FERREIRA, F. P. P. **Análise Ultrassonográfica de um Paciente Canino com Doença Renal e Hepatopatia Crônicas Submetido ao Tratamento Intravenoso com Células Tronco**. Simpósio Internacional de Diagnóstico por Imagem. ISSN 1809-4678. Rev. Medicina Veterinária. v. 5, n 4 Supl..1, p. 133. Botucatu, 2011.

ROMÃO JUNIOR, J. E. **Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação**. Jornal Brasileiro de Nefrologia, 26(3), 1–3. 2004.

MELO, P. H. M. et al. Terapia celular com células tronco mesenquimais em gatos com doença renal crônica. **Brazilian Journal of Developmet**, Curitiba, v. 7, ed. 7, p. 70741-70770, 13 jul. 2021.

GOMES, I. S. **Teste Pré-Clínico em Doença Renal Crônica Canina, com o Uso de Células-Tronco Amnióticas** - 2017. 59p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2017.

SANTOS, E. J. C. et al. Utilização terapêutica das células progenitoras adultas multipotentes alogênicas em cães acometidos pela doença renal. **Medicina veterinária (UFRPE)**, Recife, v. 13, ed. 4, p. 534-543, 20 dez. 2019.

SILVA, Sávio Christian et al. Mesenchymal stem cell therapy in acute kidney injury (AKI): Review and perspectives. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 66, n. 1, p. 45–54, 2020.

MALARD et al. **Avaliação da terapia com células-tronco mesenquimais halógenas em doença renal crônica de cães e gatos** v. 14, n. 11, a700, p. 1-8, Nov., 2020

GARLA NASCIMENTO, Natalia. **Avaliação da progressão da taxa de filtração glomerular pela dimetilarginina simétrica em cães com doença renal crônica submetidos à terapia com células-tronco mesenquimais** / Natalia Garla Nascimento. – 2019.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

**USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO DA LAMINITE
E SEUS FATORES PREDISPOANTES**

Francisco das Chagas de Souza Cunha (Discente graduação, Universidade Federal do Piauí¹), Ianahanna Duarte Santos Soares (Discente graduação, Universidade Federal do Piauí)

INTRODUÇÃO

A laminite é uma enfermidade que acomete os animais ungulados, em especial os cavalos, ocorrendo o comprometimento da ligação entre o estojo córneo e a falange distal, provocando afundamento e rotação do osso. É uma afecção grave, sendo um dos mais importantes acometimentos nos equinos. Com fisiopatologia parcialmente conhecida, seu desenvolvimento está relacionado a causas primárias associadas à sepsse, endotoxemia, excesso de peso e endocrinopatias (Paula et al., 2020).

As células-tronco mesenquimais (CTM) são células-tronco (CT) de origem mesodérmica com propriedades bioativas únicas e surgem, nesse contexto, como agente terapêutico capaz de controlar várias etapas da falência de tecidos, protegendo-os de danos inflamatórios. Essas células apresentam propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias, exercendo efeitos antioxidantes que preservam a integridade endotelial e promovem a angiogênese (Angelone, 2017).

Como desafio para esse tipo de tratamento, o controle das causas responsáveis pela persistência da doença é fundamental. Algumas terapias celulares utilizando CTM para controle de enfermidades e fatores primários predisponentes da laminite, como a síndrome metabólica equina (SME), já são descritas na literatura.

Objetivou-se com esse trabalho coletar dados acerca do potencial curativo das CTM no tratamento da laminite e suas causas primárias.

¹Medicina Veterinária, Universidade Federal do Piauí.

DESENVOLVIMENTO

Associada à perda de células-tronco epidérmicas p63+ nas lamelas do casco dos cavalos, a laminite sugere potencial proliferativo limitado do epitélio laminítico do casco. A terapia celular com CTMs pode ser explorada como promissora ferramenta no aperfeiçoamento da proliferação celular e a qualidade tecidual, contribuindo, também, para o fortalecimento vascular e monitoramento do ambiente pró-inflamatório (Cequier et al., 2021).

A ação moduladora do intenso processo inflamatório da laminite, proporcionada pela terapia celular das CTM, evidencia não somente sua contribuição para o restabelecimento dos tecidos danificados, mas também seu papel anti-inflamatório, antioxidante e imunomodulador. Para maior sucesso, a terapia com CTM deve ser iniciada na fase aguda da doença, utilizando células autólogas ou alogênicas, paralelamente ao tratamento dos fatores perpetuantes da doença (Oliveira, 2019).

Como um desses fatores que contribuem para a persistência da doença, a SME aparece como um distúrbio endócrino caracterizado por obesidade patológica, alteração hepática e predisposição pro desenvolvimento de laminite. Cequier et al. (2021) apresenta estudos utilizando células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (CTM-A) de cavalos acometidos por SME. Em um desses estudos, as CTM-A apresentaram fenótipo senescente e apoptose desenvolvida com baixa capacidade de diferenciação, tornando a terapia improvável. Contudo, um estudo recente expôs CTM-A autólogas in vitro à farmacoterapia com 5-azacitidina e resveratrol visando debelar o fenótipo envelhecido dessas células. As células demonstraram bom potencial in vivo no tratamento hepático de equinos com a síndrome. Todavia, a terapia de CTM-A foi associada ao protocolo convencional para tratamento da SME.

Descrita por Angelone et al. (2017), a combinação de plasma rico em plaquetas e CTM forma um produto natural que trás benefícios clínicos quando utilizado na cicatrização de feridas, cicatrização óssea e cirurgia plástica regenerativa. Os bioativos das plaquetas contribuem para reforçar as funções biológicas das CTM e, no tratamento da laminite equina, essa associação garantiu melhora na aparência macroscópica e restabelecimento da vascularização do casco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas nas bases de dados demonstraram variabilidade nos resultados estudados, demandando mais estudos sobre vias de administração de predileção e os efeitos celulares em casos crônicos da doença. Em contrapartida, a terapia celular com células-tronco mesenquimais apresentou-se promissora para tratamento de casos agudos e de alguns fatores predisponentes da doença.

Palavras-chave: Terapia celular. Medicina regenerativa. Células autólogas.

REFERÊNCIAS

ANGELONE, M. et al. The contribution of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma to the treatment of chronic equine laminitis: a proof of concept. **Int J Mol Sci**, vol. 18, n. 10, 2017. Doi: [10.3390/ijms18102122](https://doi.org/10.3390/ijms18102122). Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/10/2122>. Acesso em: 6 nov. 2022.

CEQUIER, A. et al. The usefulness of mesenchymal stem cells beyond the musculoskeletal system in horses. **Animals**, v. 11, n. 4, 2021. Doi: [10.3390/ani11040931](https://doi.org/10.3390/ani11040931). Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/4/931>. Acesso em: 7 nov. 2022.

MENDES, A.B.S. et al. Therapeutic potencial of mesenquimal stem cells in equine laminitis. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e436101018902, 2021. Doi: [10.33448/rsd-v10i10.18902](https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18902). Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/18902>. Acesso em: 6 nov. 2022.

GUGJOO, M.B.; AMARPAL; MAKHDOOMI, D.M.; SHARMA, G.T. Equine mesenchymal stem cells: properties, sources, characterization, and potential therapeutic applications. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 72, p. 16-27, 2019. Doi: [10.1016/j.jevs.2018.10.007](https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.10.007). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080618300704>. Acesso em: 6. nov. 2022.

OLIVEIRA, A.P.L. **Células tronco mesenquimais autólogas infundidas por perfusão regional venosa na terapia da laminite crônica em equinos**. 2019. 137 f. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

PAULA, L.A.O. et al. Laminite endocrinopática em equinos com síndrome metabólica: características clínicas, tratamento e evolução em três pacientes - relato de caso. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 72, n. 4, p. 1375-80, 2020.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS

Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>

USO DE CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS PARA
TRATAMENTO DE DIABETES MELLITUS

Luísa Vitória de Sa Carneiro Souza (Discente do curso de graduação em Farmácia, Centro Universitário Unifacid Wyden¹), Paulo Renato de Oliveira Silva (Discente do curso de graduação em Odontologia, Centro Universitário Uninovafapi), Francisca Kaline Ferreira Pereira (Discente do curso de graduação em Biomedicina, Centro Universitário Unifacid Wyden) Francisca Louenny Alves Cardoso (Biomédica, Universidade Federal do Piauí)

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica altamente prevalente na população e que é classificada como uma epidemia pela Organização Mundial de Saúde (OMS), no Brasil segundo o Ministério da Saúde estima-se que existam aproximadamente 5 milhões de pessoas com diabetes no Brasil, sendo 90% do tipo 2 e 5-10% do tipo 1. A DM tipo 1 caracteriza-se pela destruição de células pancreáticas que são responsáveis pela produção de insulina, já o DM tipo 2 caracteriza-se pela deficiência nos mecanismos de detecção de insulina culminando na resistência à insulina e é o tipo mais predominante de DM e representa praticamente 95% do total de casos (MUZZY, 2021)

Atualmente o diabetes mellitus é tratada preferencialmente com injeções de insulina, no entanto, uma nova terapêutica vem sendo estudada e tem a possibilidade de ser a nova fonte de terapia para o DM que seria a utilização de células-tronco pluripotentes humanas (CTPH) (MEMON; ABDELALIM, 2020).

Desta forma, este trabalho trata-se de uma revisão descritiva da literatura baseados em artigos das principais bases de dados como PubMed, LILACS, MEDLINE e SciELO por meio de busca avançada com o termo "Stem Cells" e "Diabetes Mellitus". A seleção das publicações foi realizada por meio da leitura dos textos na íntegra para selecioná-los de acordo com os critérios de inclusão e exclusão durante um período de tempo de 2018 a 2022. Durante a fase de inclusão das publicações, foram consideradas artigos completos e correlacionados diretamente com a temática.

DESENVOLVIMENTO

¹ Curso de graduação em Farmácia, Centro Universitário Unifacid Wyden

O Diabetes mellitus (DM) caracteriza-se se por níveis elevados e persistentes de glicemia plasmática sendo esta decorrente da escassez de insulina ou incapacidade desta agir adequadamente. O DM divide-se em dois tipos, sendo eles o tipo 1 e o tipo 2, o tipo 1 também denominado de doença autoimune afeta a capacidade das células de secretar insulina para a conversão em glicose, já o tipo 2 é considerado uma doença crônica progressiva que surge de uma deficiência nos mecanismos de detecção de insulina culminando na resistência à insulina. A resistência à insulina é inicialmente compensada pelo aumento da produção e liberação de insulina com a expansão concomitante da massa de células pancreáticas (PAN et al., 2019).

Independentemente da etiologia e das características fisiopatológicas, ambos os tipos de DM podem levar a complicações tardias como (distúrbios do metabolismo lipídico, autofagia, nefropatia, retinopatia, neuropatia, infarto do miocárdio e acidente cardiovasculares, propensão a infecções e outros). Nos tempos antigos a diabetes foi compreendida como uma condição que tinha seu mecanismo e tratamento voltado unicamente a fatores nutricionais. Atualmente o tratamento da DM2 consiste na mudança estilo de vida, tratamento da obesidade e fármacos com variados mecanismos de ação dentre os quais pretendem: aumentar a secreção de insulina - sulfonilureias, análogos da meglitinida e derivado da D-Fenilalanina. Tais terapêuticas apresentam limitações, dentre as quais estão as complicações a longo prazo resultantes do aumento crônico da glicose. Esses tratamentos apenas amenizam a doença, não fornecendo cura bem como trazem riscos relacionados as injeções que podem ocasionar quadro hiperglicêmico que é um estado crítico e pretensioso a complicações (Schmidt, 2018).

Uma alternativa a esta problemática é a utilização de células tronco que consiste na produção de células-tronco embrionárias, elas podem ser cultivadas e tratadas para se diferenciarem em qualquer tecido/célula do corpo. Esta produção de células produtoras de insulina, cultivadas in vitro ofereceria massa suficiente para transplante, para que a terapia celular do diabetes pudesse ser aplicada amplamente em pacientes diabéticos. Além da diferenciação celular direta e da terapia de reposição, o secretoma e os fatores reguladores das CTMs envolvem um forte componente parácrino, representando assim um novo paradigma para a terapêutica sem células na medicina regenerativa (Ferreira et al. 2018; L et al. 2019).

As células-tronco são células progenitoras auto-renováveis que podem se diferenciar em um ou mais tipos de células especializadas, com base nisto as mesmas vem sendo testadas para o tratamento da diabetes uma vez que por meio da indução, enriquecimento da população de células positivas para insulina, usando condições de cultura adequadas, isolamento de células que expressam insulina do resto da cultura ou direcionamento da via de diferenciação através do uso de construtos genéticos, que codificam para fatores de transcrição condicionam na reposição de ilhotas não funcionais no órgão nativo sendo assim uma fonte inesgotável de células beta para transplante. Entretanto verificou se que esta nova alternativa apresenta limitações como a definição transplante. O indesejado células como progenitoras não endócrinos podem ser reduzido por diferentes métodos de reagregação (Nair et al. 2019; Veres et al. 2019), somado a isso existe a falta de conhecimento mais específicos sobre a diferenciação das células progenitoras e os processos para sua obtenção bem como fatores éticos relacionados a obtenção das células tronco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, observou-se, que as terapias existentes para o tratamento da diabetes têm muitas limitações, riscos e complicações oferecidas aos pacientes. A utilização de células tronco pluripotentes no tratamento da diabetes mellitus se mostra promissora e é uma excelente alternativa diante da terapêutica tradicional, uma vez que, esta tecnologia apresenta inúmeras vantagens ao paciente dentre as quais se citam a diminuição de complicações e surgimento de outras patologias e a possibilidade de uma chance de cura. Ademais, considerando, a grande vantagem que o uso de células tronco pode trazer para o tratamento de pacientes portadores de DM é importante a realização de mais estudos voltados a analisar ainda mais suas vantagens, desvantagens, limitações, segurança e utilização por indivíduos portadores da diabetes, bem como sua implantação pelos serviços de saúde.

REFERÊNCIAS

Memon, B.; Abdelalim, EM. Stem Cell Therapy for Diabetes: Beta Cells versus Pancreatic Progenitors. *Cells*. 2020 Jan 23;9(2):283. doi: 10.3390/cells9020283. PMID: 31979403; PMCID: PMC7072676. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7072676/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

Schmidt, Anne Marie. “Destacando o Diabetes Mellitus: a epidemia continua”. *Arteriosclerose, trombose e biologia vascular* vol. 38,1 (2018): e1-e8. doi:10.1161/ATVBAHA.117.310221. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5776687/?report=reader>. Acesso em: 06 nov. 2022.

Pan, G.; Um, Y.; Hou, L.; Liu, J. Examining the therapeutic potential of various stem cell sources for differentiation into insulin-producing cells to treat diabetes. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2019 Feb;80(1):47-53. doi: 10.1016/j.ando.2018.06.1084. Epub 2018 Jul 21. PMID: 30041820. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003426618311788?via%3Dihub>. Acesso em: 06 nov. 2022.

Ferreira, Joana R., et al. “Mesenchymal Stromal Cell Secretome: Influencing Therapeutic Potential by Cellular Pre-conditioning”. *Frontiers in Immunology*, vol. 9, dezembro de 2018, p. 2837. DOI.org (Crossref),. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02837>. Acesso em: 06 nov. 2022.

Nair, Gopika G., et al. “Recapitulating Endocrine Cell Clustering in Culture Promotes Maturation of Human Stem-Cell-Derived β Cells”. *Nature Cell Biology*, vol. 21, no 2, fevereiro de 2019, p. 263–74. DOI.org (Crossref),. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0271-4>. Acesso em: 06 nov. 2022.

Ferreira, JR.; Teixeira ,GQ.; Santos ,SG.; Barbosa, MA .; Almeida-Porada G.;Gonçalves RM. Secretoma de células estromais mesenquimais: influenciando o potencial terapêutico pelo pré-condicionamento celular. *Frente Immunol.* 4 de dezembro de 2018; 9:2837. doi:

10.3389/fimmu.2018.02837. PMID: 30564236; PMCID: PMC6288292. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6288292/>. Acesso em: 06 nov. 2022.

MUZY, J.; CAMPOS, M. R.; EMMERICK, I.; SILVA, R. S. D.; SCHARMM, J. M. D. A. PREVALÊNCIA de diabetes mellitus e suas complicações e caracterização das lacunas na atenção à saúde a partir da triangulação de pesquisas. *Cadernos de Saúde Pública/Reports in Public Health (CSP)*, [S. l.], p. 1-12, 28 maio 2021. DOI <https://doi.org/10.1590/0102-311X00076120>. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0102-311X00076120>. Acesso em: 6 nov. 2022.

UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO COMO TERAPIA ALTERNATIVA EM SEQUELAS NEUROLÓGICAS DE CÃES COM CINOMOSE - REVISÃO DE LITERATURA

*Geovana Vitória Rocha Nascimento (Discente Medicina Veterinária, UNINASSAU Teresina),
Helenilde da Silva Barros (Discente Medicina Veterinária, UNINASSAU Teresina),
Gerson Tavares Pessoa (Orientador, Coordenador de Curso Medicina Veterinária,
UNINASSAU Teresina).*

INTRODUÇÃO

A cinomose é uma enfermidade infectocontagiosa causada por um RNA-vírus do gênero *Morbillivirus*, da família *Paramyxoviridae*, afetando cães e outros carnívoros (BARALDI, et al., 2022; NASCIMENTO, 2009). A sua transmissão ocorre principalmente por meio de aerossóis e gotículas contaminadas. A cinomose se caracteriza por ser uma doença viral multissistêmica, logo quando o vírus contamina o epitélio, este, se replica nos macrófagos do trato respiratório superior e dissemina-se para os tecidos linfáticos locais (MANGIA, 2008; SILVA, 2021). Ele pode afetar outros sistemas como o sistema gástrico, tegumentar e nervoso, em que o sistema nervoso é o mais afetado.

A doença supracitada não possui nenhum sinal patognomônico, em geral, o animal infectado apresenta secreção nasal ou ocular, serosa a mucopurulenta, seguida por tosse seca, depressão, apatia e febre (BARALDI, et al., 2022). No que concerne aos sinais neurológicos, ela varia de acordo com a área do sistema nervoso central (SNC) acometido. Pode-se observar hiperestesia e rigidez cervical ou paraespinhal, inflamação meníngea, convulsão, paraparesia ou tetraparesia com ataxia sensorial e mioclonia (PENELAS, 2015; SILVA 2021).

Mesmo após o tratamento, muitos animais ainda apresentam sequelas neurológicas devido a possíveis danos irreversíveis, pois as células não conseguem recrutar células novas para exercer a função da célula acometida (DANTAS, 2019). Por isso, diversos estudos estão sendo feitos utilizando as células-tronco como tratamento de sequelas neurológicas decorrentes da cinomose.

Objetivou-se com o trabalho realizar uma revisão de literatura sobre o uso das células-tronco como terapia alternativa para cães com sequelas neurológicas devido a cinomose, abordando o tratamento e como este traz resultados promissores e satisfatórios para doenças que acometem o sistema nervoso.

DESENVOLVIMENTO

A terapia com células-tronco têm sido alvo de estudos nos últimos anos, sendo testada em diversos organismos vivos com foco em doenças de importância humana e veterinária. Sua utilização tem alcançado resultados positivos principalmente no tratamento de doenças inflamatórias e degenerativas (BRITO, et al., 2010; DANTAS, 2019; PAIM, et al., 2022). O uso de células-tronco como tratamento consiste em restaurar o funcionamento de tecidos e órgãos, além de repor células danificadas por células saudáveis, resultando na regeneração e reparação do tecido (SILVA, 2021). Destaca-se o uso das células-tronco mesenquimais, também denominadas por células progenitoras adultas multipotentes. Essas células podem ser retiradas de organismos adultos e conseguem diferenciar-se em variados tipos celulares, porém, restritos de um mesmo folheto embrionário como as células do estroma medular (DANTAS, 2019; SILVA, 2021).

As células-tronco mesenquimais são indiferenciadas que apresentam alta taxa de proliferação, potencial de auto renovação e capacidade de diferenciação em diversas células do organismo, atuando diretamente na regeneração de tecidos mesenquimais lesionados. Além disso, podem ser extraídas de tecidos conjuntivos, como medula óssea e tecido adiposo (Dantas, 2019). Segundo Paim, et al. (2022) as células-tronco mesenquimais podem obter a morfologia e funcionalidade de células danificadas ao serem introduzidas no tecido lesionado, resultando em regeneração do mesmo.

Em cães, as células-tronco estão sendo utilizadas no tratamento alternativo das sequelas ocasionadas pela cinomose, através do mecanismo de diapedese, as células-tronco conseguem ultrapassar a barreira hematoencefálica, além disso, elas demonstram facilidade em alcançar o objetivo no SNC pela ruptura da barreira hematoencefálica causada pelo vírus da cinomose canina, desse modo, abrindo caminho para a passagem das células (DANTAS, 2019; PAIM, et al., 2022). Segundo Monteiro, et al. (2010) o tratamento com células-tronco mesenquimais consiste em aplicações terapêuticas utilizando a fração celular mononuclear da medula óssea, que contém pequenas quantidades de células-tronco mesenquimais ou o cultivo em laboratório de diversos órgãos. As aplicações podem ser in situ, ou seja, no local da lesão, isoladas ou combinadas com biomateriais e por infusão intravenosa.

Dantas (2019) em estudo realizado com nove cães com idades entre seis meses e oito anos, que sofriam de paresia, desequilíbrio, ataxia e nistagmo como sequelas neurológicas da cinomose, foram tratados com células-tronco mesenquimais alógenas retiradas de tecido adiposo de um cão doador saudável. O tratamento consistia em três aplicações endovenosas com intervalo de 21 dias. Nos resultados, houve uma redução de 55,6% dos casos de paresia, 33,4% de desequilíbrio, 11,1% de ataxia e 100% do nistagmo. Além disso, cerca de três cães jovens apresentaram melhora significativa entre a primeira e segunda aplicação, enquanto cerca de dois cães mais velhos apresentaram resultado desejado após terceira aplicação. Fica evidente que os animais foram responsivos ao tratamento em momentos distintos, ressaltando que a infecção e a recuperação estão relacionadas com idade, ao estado imunológico, à cepa e ao tempo de persistência do vírus.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cinomose é uma doença relevante na clínica, pois apresenta uma alta taxa de morbidade e mortalidade. Além disso, pode causar diversas sequelas neurológicas que podem ser irreversíveis e que diminuem a qualidade de vida do animal, por isso, são necessárias medidas mais efetivas no tratamento dessas sequelas.

O tratamento com células-tronco tem apresentado grande potencial e vem trazendo resultados promissores e seguros, de suma importância para a recuperação das sequelas neurológicas causadas pela cinomose. Entretanto, seus efeitos terapêuticos não foram eficazes em 100% dos casos, porém a maior parte da literatura revisada demonstrou resultados positivos após o tratamento.

Em suma, se faz necessário mais estudos acerca da utilização de células-tronco, já que essa terapia depende de diversos fatores, como características da doença e estado do paciente. Além disso, os resultados promissores da terapia proporcionam ao paciente melhor qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

BARALDI, G.G.; BENTO, N.P.U.; KOBAYASHI, P.E. Uso de células-tronco no tratamento de sequelas neurológicas causadas pela cinomose. **Revista Científica Eletrônica FAEF**, ed. 38, 2022.

BRITO, H. F. V.; CORAT, M. A. F.; SANTOS, M. R.; GILIOLI, R., PASSOS, L. A. C.; LANCELLOTTI, M.; FERREIRA, F.; MIN, L. L. Tratamento de sequelas neurológicas em cães, causadas por infecção pelo vírus da cinomose, através do transplante halogênico de células mononucleares de medula óssea. **Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 8, n. 24, p. 27–29, 2010.

DANTAS, C. N. **Tratamento com células tronco mesenquimais em cães com paresia como seqüela neurológica da infecção pelo vírus da cinomose**. 2019. 45 f. TCC (Graduação) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

MANGIA, S.H.; PAES, A.C. Neuropatologia da cinomose. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.416-427, 2008.

MONTEIRO, B. S.; ARGOLO NETO, N. M.; DEL CARLO, R. J. Células-tronco mesenquimais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 1, p. 238–245, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/ct/a/CpHCgGmXgBBqZv67h5G9BjK/?lang=pt>>. Acesso em: 02 nov. 2022.

NASCIMENTO, D.N.S. **Cinomose canina - revisão de literatura**. 2009. Tese (Especialização) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semi Árido, Belém, Pará, 2009

PAIM, L. L.; COSTA, J. M. P; CONSUL, P. M. Atualidades no uso de células-tronco para o tratamento de sequelas neurológicas decorrentes da cinomose canina. **PUBVET**, v.16, n.05, p.1-4, 2022. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/artigo/9186/atualidades-no-uso-de-celulas-tronco-para-o-tratamento-de-sequelas-neuroloacutegicas-decorrentes-da-cinomose-canina>>. Acesso em: 02 nov. 2022.

PENELAS, N. V. T. **Tratamento fisioterapêutico em caso de sequelas por cinomose**. 2015. 27 f. TCC (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2015.

SILVA, A. P. **Cinomose canina e tratamento de sequelas neurológicas com células-tronco**. 2021. 44 f. TCC (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Sul de Minas, Varginha, 2021.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR – CAPES
PROGRAMA DE APOIO A EVENTOS NO PAÍS -PAEP
II SIMPÓSIO DE CELULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR: MEDICINA REGENERATIVA E
MATERIAIS BIOINSPIRADOS**

*Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI
11, 12 e 13 de novembro de 2022
<https://nupcelt.ufpi.edu.br/eventos>*

**VIABILIDADE DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DA
MEDULA ÓSSEA CULTIVADAS COM LAPONITA**

*Francisca Louenny Alves Cardoso (Discente mestrado, Universidade Federal do Piauí¹),
Letícia Lorryne da Silva Soares (Discente mestrado, Universidade Federal do Piauí),
Danielle Benigno de Andrade e Silva (Discente doutorado, Universidade Federal do Piauí),
André Cardoso Tavares (Centro Universitário Unifacid Wyden), Napoleão Martins Argolo
Neto (Professor Adjunto UFPI), Maria Acelina Martins de Carvalho (Orientador, Programa de
Pós-graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional)*

INTRODUÇÃO

Há mais de meio século, foram descritas, pela primeira vez, as células progenitoras localizadas na medula óssea com capacidade de diferenciar-se em osteoblastos, condroblastos, adipócitos e até mieloblastos (FRIEDENSTEIN et al., 1966). As células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea (CTMO) atuam modulando a resposta inflamatória através de fatores imunomoduladores e bioativos tróficos que secretam (CHU et al., 2020). Pois, promovem a resposta de linfócitos T helper 2 (Th2) inibindo a produção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (IFN- γ) e aumento da interleucina 10 (IL-10) (RODRÍGUEZ-FUENTES et al., 2021; CAPLAN, 2007). A laponita é uma nanoargila sintética com fórmula química $\text{Na}_{0,7}[(\text{Si}_8\text{MgLi}_{0,3})\text{O}_{20}(\text{OH})_4]_{0,7}$ (PERARO et al., 2020). Foram apresentadas evidências de que a laponita é capaz de induzir a diferenciação celular na ausência de fatores de indução. No entanto, pouco se sabe quanto as reações imunológicas e citotóxicas que essa interação pode proporcionar para se alcançar tal objetivo (MIHAILA et al., 2013). Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade das CTMO cultivadas com a laponita para identificar possíveis concentrações citotóxicas do material.

METODOLOGIA

Este é um estudo experimental *in vitro*, elaborado segundo normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPI com

¹ Discente do curso de Mestrado, Programa de pós-graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional- Universidade Federal do Piauí.

proposta aprovada e registrada no número 695/21. A medula óssea foi coletada de ratos Wistar seguindo a Resolução Normativa nº 37 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Após a coleta, as células foram mantidas em cultivo com suplementação de DMEM glutamax (Invitrogen-Gibco®, USA) em incubadora com 5% de CO₂, a 37°C com 95% de umidade e troca de meio regular até a confluência de 80% (**Figura 1A**). Para o ensaio de viabilidade, as células em terceira passagem foram cultivadas em placas de 96 poços. Após a aderência das células foi inserida a laponita® em gel, fornecida pelo Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV-UFPI). As células e o material foram cultivados em triplicada, sendo destinados 3 poços para o branco, onde foram mantidas com apenas o meio de cultivo; 3 poços para o grupo controle, onde se encontravam apenas células; 3 poços com células cultivadas com laponita® a 3% e 3 poços com células cultivadas com laponita® a 6%. Os resultados da viabilidade celular foram realizados em 24 e 48 horas através da metodologia de MTT, no qual o meio de cultivo foi substituído por solução de brometo de MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio) (M2003 Sigma-Aldrich) 5 mg/mL e D-MEM High Glucose. As placas foram incubadas por 4 horas a 37 °C com 5 % de CO₂ e após esse tempo, foram retirados o sobrenadante que posteriormente foi descartado e foi adicionado 100µL de DMSO. A placa ficou em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente para dissolução completa dos cristais de formazan, sendo realizada a leitura a 570 nm em leitora de placa Biotek (modelo ELx800). Os resultados foram expressos em porcentagem de viabilidade através da média da absorbância dos tratados/ média dos controles x100, de acordo com (WANG et al., 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As células-tronco derivadas da medula óssea de ratos Wistar, cultivadas com laponita®, por meio do teste de MTT, demonstrou em 24 horas de cultivo uma viabilidade celular de 86% em concentração de 3% do material em relação ao grupo controle (100%), no entanto, em concentração de 6% da laponita® ocorreu aumento da viabilidade celular com 116% em relação ao mesmo grupo controle. Em 48 horas de cultivo as células-tronco tiveram uma viabilidade de 120% e 134% respectivamente (**Figura 1B**).

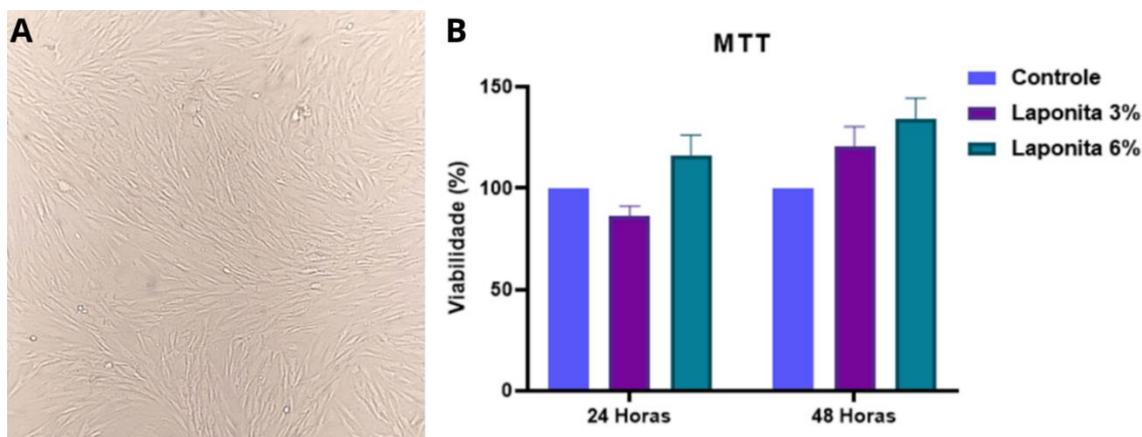


Figura 1: (A) Confluência acima de 80% das CTM formando uma monocamada de células. (B) gráfico com resultado do teste de Viabilidade celular por MTT das CTMO com laponita®

Para que um biomaterial não apresente citotoxicidade, este deve demonstrar viabilidade celular maior que 70%, e valores acima de 70% são observados em todos os resultados. Sugere-se que esse aumento da viabilidade celular encontrado nesse estudo ocorra em consequência da expansão das células em contato com a laponita®, que favoreceu e contribuiu com a proliferação celular (NIAMSAP et al., 2019).

CONCLUSÃO

Conclui-se que, mediante realização do teste de MTT, o uso da nanopartícula de laponita® em culturas de células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea de murino, não apresentou efeitos citotóxicos nas duas concentrações testadas, pois os resultados de viabilidade foram acima de 70%. Evidenciando-se, portanto, sua propriedade biocompatível, sendo a possível a utilização para testes *in vitro* e *in vivo*. O material tem grande potencial de uso na engenharia de tecidos pois de acordo com o teste realizado, o material fornece um ambiente propício para o crescimento celular.

APOIO

Universidade Federal Do Piauí (UFPI); Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células-Tronco (NUPCelt/UFPI); Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV-UFPI); CNPq – Processo Nº 306793/2018-0

REFERÊNCIAS

CAPLAN, A.; I. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. **J Cell Physiol** 2007;213:341e347. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.21200>. Acesso em: 02 Nov. 2022.

CHU, D.T.; PHUONG, T.N.T.; TIEN, N.L.B et al. An Update on the Progress of Isolation, Culture, Storage, and Clinical Application of Human Bone Marrow Mesenchymal Stem/Stromal Cells. **Int J Mol Sci**. 2020 Jan 21;21(3):708. doi: 10.3390/ijms21030708. PMID: 31973182; PMCID: PMC7037097. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7037097/>. Acesso em: 02 Nov. 2022.

FRIEDENSTEIN, A. J.; PIATETZKY-SHAPIRO, I.; PETRAKOVA, K. V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. /. **Embryol. exp. Morph.**, Vol. 16, 3, pp. 581-390, December 1966.

MIHAILA, S.M.; FRIAS, A.M.; PIRRACO, R.P.; RADA, T.; REIS, R.L.; GOMES, M.E. et al. Human adipose tissue-derived SSEA-4 subpopulation multi-differentiation potential towards the endothelial and osteogenic lineages. **Tissue Eng Part A** 2013;19:235– 46.

NIAMSAP, T.; LAM, N.T.; SUKYAI, P. Production of hydroxyapatite-bacterial nanocellulose scaold with assist of cellulose nanocrystals. **Carbohydr. Polym.** 2019, 205, 159–166. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861718312232>. Acesso em: 30 Out. 2022.

RODRÍGUEZ-FUENTES, D. E.; FERNÁNDEZ-GARZA, L. E.; SAMIA-MEZA, J. A.; BARRERA-BARRERA, S. A.; CAPLAN, A. I.; BARRERA-SALDAÑA, H. A. Mesenchymal Stem Cells Current Clinical Applications: A Systematic Review, **Archives of Medical Research**, Volume 52, Issue 1, 2021, Pages 93-101, Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S018844092030638X>. Acesso em: 03 Nov. 2022.

WANG, S.; YU, H.; WICKLIFFE, J. K. Limitation of the MTT and XTT assays for measuring cell viability due to superoxide formation induced by nano-scale TiO₂, **Toxicology in Vitro**, Volume 25, Issue 8, 2011, Pages 2147-2151, ISSN 0887-2333, <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.07.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233311001974>. Acesso em: 31 Out. 2022.