

PESQUISAS CIENTÍFICAS - AQUELAS QUE SÃO FRUTO DE PESQUISA EMPÍRICA DENTRO DOS PARÂMETROS DO MÉTODO CIENTÍFICO. - TECNOLOGIAS, GESTÃO E POLÍTICAS PÚBLICAS - USO INTELIGENTE E INOVADOR DE CONHECIMENTOS E RECURSOS TECNOLÓGICOS PARA DESENVOLVER PRODUTOS E PROCESSOS SUSTENTÁVEIS, BUSCANDO PROMOVER A SUSTENTABILIDADE AMBIENTAL E A PRESERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. O RECONHECIMENTO E VALORIZAÇÃO DA SABEDORIA ACUMULADA PELOS SISTEMAS BIOLÓGICOS E PELAS COMUNIDADES TRADICIONAIS, APLICADO NA GESTÃO DE PROJETOS, ORGANIZAÇÕES E EM POLÍTICAS PÚBLICAS, PARA O BENEFÍCIO DA SOCIEDADE, DESENVOLVENDO AÇÕES, PRODUTOS, MATERIAIS E SISTEMAS NA BUSCA DE SOLUÇÕES DE PROBLEMAS SOCIOAMBIENTAIS. EX: TECNOLOGIAS SOCIAIS, ECONOMIA CIRCULAR, TECNOLOGIAS VERDES, BIODESIGN, ARQUITETURA VERNACULAR, BIOMIMÉTICA, BIOPLÁSTICOS, BIOCOMBUSTÍVEIS, BIOFERTILIZANTES, SABERES TRADICIONAIS APLICADOS À CONSERVAÇÃO DOS ALIMENTOS, ETC.

PADRONIZAÇÃO DE ENSAIOS PARA QUALIFICAÇÃO DE CULTURAS PRIMÁRIAS CELULARES UTILIZADAS EM PRODUTOS DE TERAPIA CELULAR EM DESENVOLVIMENTO NO LMR-UNIFASE

Priscila Grion De Miranda Borchio (priscilaborchio@unifase-rj.edu.br)

Cleonice Gomes De Santana (gomescleo98@gmail.com)

Maria Eduarda Cordebello Gall (dudacorbello@gmail.com)

Rosana Bizon Vieira Carias (rosanabizon@prof.unifase-rj.edu.br)

Introdução: A área biomédica e biotecnológica, tem sido impulsionada pelo conhecimento tecnocientífico, resultando em descoberta e desenvolvimento terapêutico na medicina regenerativa. Produtos de Terapia avançada (PTA), como terapia celular, terapia gênica e engenharia de tecidos, baseados em cultivo de células in vitro, estão sendo utilizados para prevenir e tratar doenças, visando cura e melhoria da qualidade de vida. As células mesenquimais estromais (MSCs) são amplamente utilizadas, sendo obtidas de tecidos biológicos e podendo ser utilizadas de forma autóloga ou alogênica. O foco na terapia celular destaca seu potencial inovador e as MSCs obtidas de tecido adiposo, em particular, são valorizadas por suas propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias e capacidade de diferenciação. Além das células MSCs, tem sido descrito na literatura a utilização de células de cartilagem do septo nasal, que são células multipotentes e possuem grande capacidade de se diferenciar para a via condrogênica e osteogênica. Os fibroblastos (HFB) da derme desempenham um papel importante na manutenção da integridade do tecido conjuntivo, e não possuem a capacidade de se diferenciar para as vias condrogênica, adipogênica e osteogênica, por esse motivo são usados como controle negativo dos experimentos. Objetivo: O objetivo deste trabalho é a padronização de ensaios para o estabelecimento de parâmetros qualitativos ou quantitativos de qualidade de MSCs que possuem propósito de uso como PTA. Metodologia: A obtenção das culturas primárias de MSC e fenotipagem seguiram a RDC-ANVISA 836/2023 e as Boas Práticas de Métodos in Vitro nas instalações do Laboratório de Medicina Regenerativa (LMR) da UNIFASE para a realização das metodologias utilizadas na qualificação de células e PTA. Foram realizados ensaios para a padronização de métodos para determinação da quantificação, viabilidade, capacidade proliferativa e estados proliferativo e apoptótico das células; e para a determinação da potência, foram realizados ensaios de diferenciação celular para as linhagens adipogênicas e osteogênicas. As células MSCs (n=7) passaram pelos ensaios de testes microbiológicos para fungos, bactérias e micoplasmas, para garantir a pureza das células utilizadas. Para avaliação de potência, as células foram induzidas para via adipogênica e osteogênica. Para a revelação da indução adipogênica, foi utilizada coloração com Oil Red, o qual possui afinidade por lipídios. O ensaio de indução para via osteogênica, utilizou as colorações para cristais de cálcio com solução de Vermelho de Alizarina e com solução de Von Kossa. Para medidas quantitativas, o corante alizarina red adsorvido na coloração, foi extraído com uso de solução de metanol e ácido acético (1:2) ou DMSO e, em seguida, medido em espectrofotômetro a 450 nm

e 405 nm, respectivamente. Para a avaliação da coloração com Von Kossa, foram adquiridas imagens em microscópio óptico invertido EVOS 5000, as quais foram analisadas com uso do software IMAGEJ. Resultados: Até o momento, os ensaios empregados foram considerados qualitativos, com exceção do método de indução à osteogênese, que evoluiu para a geração de dados quantitativos, tanto pela extração do corante (Vermelho de Alizarina), como pela análise das imagens (Von Kossa). Nossos dados demonstram que a coloração com Von Kossa cora de forma mais específica, quando comparada a de Vermelho de Alizarina. A literatura aponta a coloração com Vermelho de Alizarina como sendo a preferencial e como padrão ouro. Nossos ensaios seguem sendo realizados com maior número de amostras, para gerar dados robustos de repetibilidade e reprodutibilidade, para que entre em harmonia com a literatura ou para que seja relatado como discordante. O equipamento BACTEC BD, considerado aprovado pela ANVISA para realização de ensaios alternativos validados, foi utilizado nesta metodologia para a detecção da presença de fungos e bactérias, porém deverá seguir para validação de método para o produto específico de PTA. Conclusão: Tendo em vista que toda metodologia adotada será de grande importância para a comunidade tecnocientífica e que a utilização dessas células é muito demonstrada em ensaios clínicos e pesquisas pré-clínicas, os resultados deste trabalho são promissores em eficácia e segurança. Vale ressaltar, a necessidade de mais estudos para determinar a aplicação ideal em diferentes condições in vitro e aprimorar protocolos de isolamento e expansão das MSCs. O desenvolvimento contínuo e pesquisa são cruciais para elucidar todo o potencial terapêutico dessas células.

Palavras-chave: padronização de ensaios; produtos de terapia celular; medicina regenerativa.