



## MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS NO REPARO ÓSSEO DO FÊMUR UTILIZANDO CÉLULAS TRONCO MONONUCLEARES NO PLASMA RICO EM PLAQUETAS

Márcia Illana Kopschina<sup>1</sup>, Denise Cantarelli Machado<sup>3</sup>, Daniel Rodrigo Marinowic<sup>3</sup>, Cristian Viezzer<sup>3</sup>, Caroline Peres Klein<sup>4</sup>, Camilla Araujo Assad<sup>4</sup>, Tiago Alexi Freitas<sup>4</sup>, Cristiano Ducan Aita<sup>4</sup>, Leonardo Palma Kuhl<sup>4</sup>, Gabriela Hoff<sup>2</sup>, Jefferson Braga da Silva<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>*Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS,*

<sup>2</sup>*Faculdade de Física, PUCRS,*

<sup>3</sup>*Instituto de Pesquisas Biomédicas, PUCRS*

<sup>4</sup>*Laboratório de Habilidades Médicas e Pesquisa Cirúrgica, PUCRS*

### Introdução

A aplicação de células-tronco humanas é a geração de células e tecidos que poderiam ser utilizados em terapias. Células troncas mononucleares, dirigidas para se diferenciarem em tipos celulares específicos, oferecem a possibilidade de uma fonte renovável de células e tecidos de reposição para tratar de traumas e lesões, bem como outras doenças. Sendo assim, com as novas tecnologias para regeneração óssea proporcionando um entendimento das interações que ocorrem nos eventos de reparo, criam-se novas expectativas de recuperação óssea em situações que, anteriormente eram tidas como irreparáveis, visando uma possível aplicação futura.

Tendo isto em vista, este trabalho visa o desenvolvimento de um modelo experimental para análise In Vivo da proliferação e diferenciação de células-tronco mononucleares para regeneração do tecido ósseo com uso de gel de plasma rico em plaquetas (PRP) e/ou fator de crescimento transformador Beta (TGF- $\beta$ ).

### Metodologia

Serão usados 39 ratos isogênicos Wistar-Kyoto adultos, dos quais 33 serão receptoras fêmeas e 6 doadores machos. Os animais serão divididos em 3 grupos: o grupo 1 (G1)

receberá o tratamento com MO e TGF- $\beta$ , o grupo 2 (G2) receberá MO, TGF- $\beta$  e PRP e o grupo 3 (G3) MO e PRP. Após receberem anestesia (Kohn et al.) com solução de Cetamina e Clorpromazina, os animais serão submetidos à criação de um defeito crítico bilateral nos fêmures (C. Kirker-Head et al.) – fêmur direito com tratamento e esquerdo controle -, com aproximadamente 5 mm de comprimento, 2,5 mm de largura e profundidade suficiente para alcançar o canal medular. As células mononucleares serão obtidas a partir da medula óssea do fêmur dos ratos doadores e separadas por centrifugação, Histopaque-1077. A viabilidade celular será avaliada pelo método de exclusão com azul-tripan em hemocitômetro (Boyüm, 97). Para a obtenção do PRP, será feita uma punção cardíaca (Plachokova et al.) retirando 6 mL de sangue de cada animal doador, o qual será centrifugado e coletado em um volume de 10%, referente ao PRP. O fator de crescimento TGF-  $\beta$  adquirido do Laboratório Biosource. A avaliação será feita por análises radiográficas e por imunistoquímica 6 e 10 semanas pós-operatório. Os dados serão submetidos à análise de dupla variância (ANOVA) seguida pelo teste complementar de Tuckey, considerando  $p < 0,05$  como diferença estatística. Será utilizado o programa Image J para análise radiográfica e Image Pro Plus para análise de imunistoquímica.

## **Resultados**

Este trabalho está em fase experimental e, portanto, ainda não há resultados preliminares disponíveis. Os dados serão avaliados através de análises radiográficas para verificar se houve o reparo ósseo, imunistoquímica para avaliação da diferenciação das células e por fim, a análise estatística será realizada através do teste de dupla variância (ANOVA) seguido pelo Tuckey, considerando  $p < 0,05$  como diferença estatística.

## **Conclusão**

Com base em dados teóricos, o modelo experimental de reparo ósseo do fêmur utilizando células tronco mononucleares em plasma rico em plaquetas, parece ser eficaz. Através deste, será possível o desenvolvimento de novas técnicas para o reparo de lesões ósseas anteriormente vistas como irreparáveis, gerando expectativas de recuperação.

## Referências

BOYÜM, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood: isolation of mononuclear cells by on centrifugation and granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1g. **Scand J Clin Invest Suppl**, 1968; 97:77-89.

C.KIRKER-HEAD et al. Biomaterials to heal critical sized femur defects. **Bone**, vol.39, p.922-31.

KOHN, D.F., Benson, G.J., WIXSON, S.K., White, W.J., **Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals**; Academic Press, New York, 1997; Chapter 15.

PLACHOKOVA et al. The Bone regenerative effect of PRP in combination with on osteoconductive material in rat cranial defects. **Clinical Oral Implants Research**, 17, p. 305-311.