



## Potencial Regenerativo das Células-Tronco Associadas ao Grafeno na Lesão Traumática da Medula Espinal

### Células-Grafeno

Autores: Maria Eduarda Lima Viapiana, Natália Fontana Nicoletti, Daniele Perondi, Asdrubal Falavigna

#### INTRODUÇÃO / OBJETIVO

O trauma raquimedular (TRM) acomete a medula espinhal com perda da função motora e sensorial. Nanoplaquetas de grafeno combinadas a células-tronco mesenquimais (CTMs), são terapêutica promissora em neurologia regenerativa, visto o efeito excitatório do grafeno, por suporte à angiogênese e à regeneração de axônios neurais na área lesada. Diante de resultados positivos de citotoxicidade e biocompatibilidade, este estudo aprofunda a investigação da interface CTMs-Grafeno em cultivo 3D.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Para a formação dos esferóides, foram utilizadas células primárias residentes da medula espinhal, em suspensão com densidade de  $2 \times 10^6/190\mu\text{L}$  em meio próprio para cultivo celular em 3D. A suspensão celular foi depositada em um molde de agarose 2%, manufaturado com 81-micro poços, posicionado sobre placas de 6 poços. A nanoplaqueta de grafeno UGZ-1004 foi desinfetada com luz UV (30 min) e aplicada por contato direto por 48h nas CTMs, previamente à manufatura dos esferóides. O diâmetro dos esferóides e a sua habilidade de fusão foram avaliados nos dias 1, 3 e 7, a partir de 10 esferoides por grupo, utilizando o microscópio investido AXIOVERTII (Carl Zeiss, Germany) e o respectivo software (MicrolImaging GmbH, Germany). Para identificar e quantificar a morte celular nas esferas, foi utilizado o kit *LIVE/DEAD Cell Viability Assay* kit (ABKINE). Esferóides em diferentes tempos de cultivo, foram incubados para a marcação celular.

#### RESULTADOS

A partir do cultivo primário (Figura 1), foram geradas esferas celulares ( $2 \times 10^6/190 \mu\text{L}$ ) com rendimento de 81 esferoides por molde de agarose, apresentando boa eficiência, reprodutibilidade e viabilidade de até 28 dias. A interação célula-célula foi preservada com UGZ1004, favorecendo a formação dos esferoides (Figura 2). O diâmetro médio (400  $\mu\text{m}$ ) e a fusão foram avaliados nos dias 1 a 28, comprovando a estabilidade intrínseca e diâmetro das esferas manufaturas a partir da interface UGZ1004-CTMs. A viabilidade celular foi superior a 70% no 28º dia, pela análise de *LIVE/DEAD* (Figura 3).

#### RESULTADOS

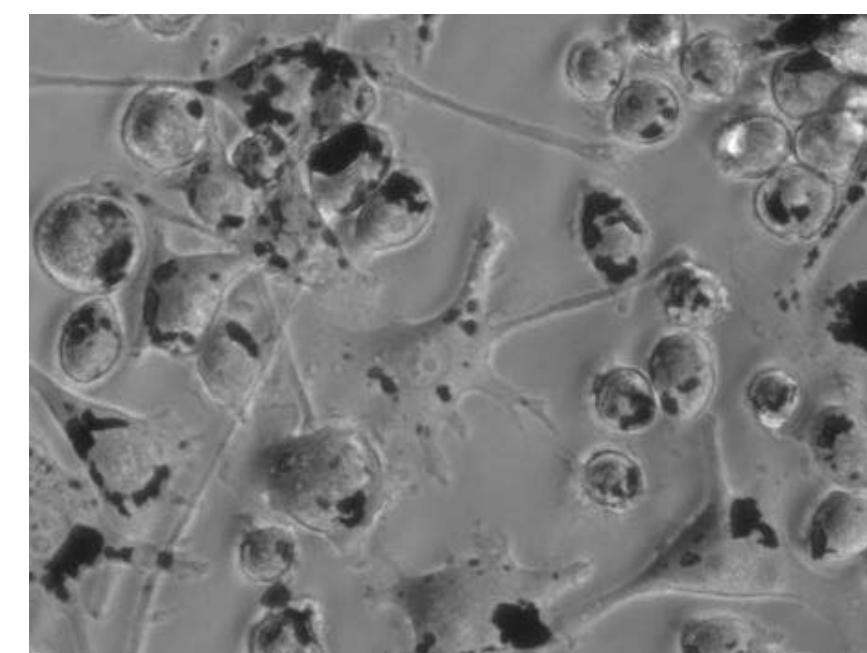


Fig 1. Células da linhagem BV2. Cultivo acrescido da formulação UGZ1004. Nanoplaquetas de grafeno internalizadas e manutenção do aspecto usual da colônia celular (objetiva de 40 x).

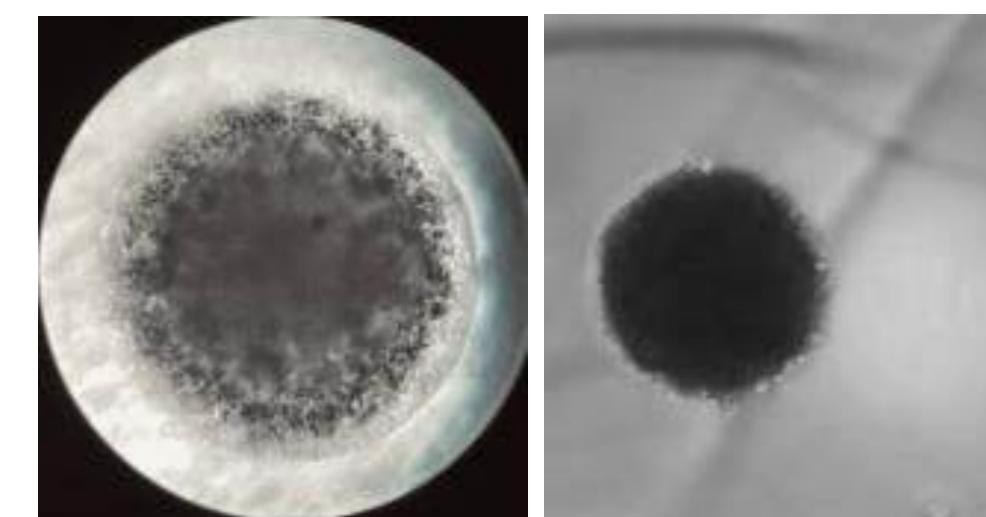


Fig 2. Esferóide de MSC com nanoplaquetas de grafeno UGZ1004 em 21 dias em cultivo (em microscopia ótica invertida).

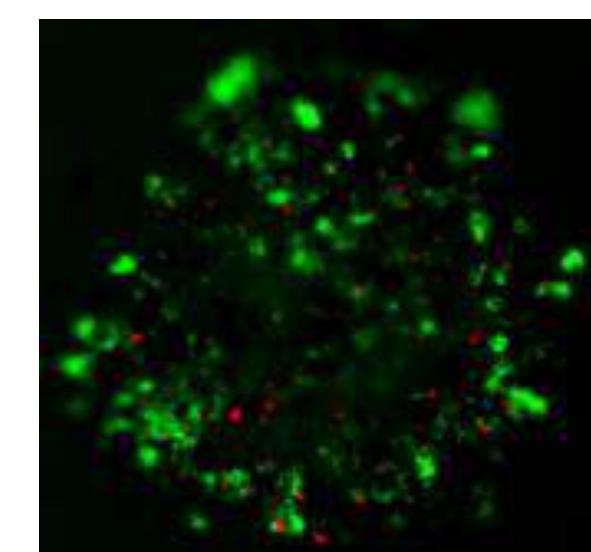


Fig 3. Esferóide de MSC com nanoplaquetas de grafeno UGZ1004 em 21 dias em cultivo - *LIVE/DEAD Cell Viability Assay* kit.

#### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A formulação UGZ1004 demonstrou compatibilidade para manufatura das esferas celulares em cultivo 3D. A morfologia, a interação célula-célula e a viabilidade acima de 70% até 28 dias foram preservadas, o que reforça o potencial terapêutico das nanoplaquetas de grafeno associadas a CTMs no contexto do TRM. Estes resultados fundamentam a continuidade do estudo, com foco no entendimento do potencial de resistência intrínseca e condutividade elétrica das esferas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hillen BK, Abbas Jj Fau - Jung R, Jung R. Accelerating locomotor recovery after incomplete spinal injury. 2013; (1749-6632 (Electronic)).
- Zhao CQ, Wang LM, Jiang LS, Dai LY. The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration. Ageing Res Rev. 2007;6(3):247-61.
- Rigal J, Leglise A, Barnetche T, Cogniet A, Aunoble S, Le Huec JC. Meta-analysis of the effects of genetic polymorphisms on intervertebral disc degeneration. Eur Spine J. 2017;26(8):2045-52
- Serrano MC, Feito MJ, González-Mayorga A, Diez-Orejas R, Matesanz MC, Portolés MT. Response of macrophages and neural cells in contact with reduced graphene oxide microfibers. Biomater Sci. 2018; Nov 1;6(11):2987- 2997.
- Tiwari P, Tiwari S. Detection and modulation of neurodegenerative processes using graphene-based nanomaterials: Nanoarchitectonics and applications. Adv Colloid Interface Sci. 2023; Jan;311:102824.