

LÍVIA MARIA BARBOSA DE ANDRADE

**Utilização de cartilagem auricular descelularizada no tratamento de doenças
articulares degenerativas**

SÃO PAULO

2022

RESUMO

ANDRADE, L. M. B. **Utilização De Cartilagem Auricular Descelularizada No Tratamento De Doenças Articulares Degenerativas.** 2022. 125 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A perda da funcionalidade dos órgãos e tecidos devido a defeitos congênitos, processos patológicos ou traumas, estimulou o desenvolvimento da engenharia tecidual, com o objetivo de reparar ou mesmo substituir tecidos ou órgãos danificados. Entretanto, um dos obstáculos desta nova biotecnologia é a seleção do material que irá reconstituir o novo tecido. Em se tratando de cartilagem articular, o desafio é ainda maior, pois apresenta limitada capacidade de autorreparação devido à baixa vascularização. Além disso, mimetizar a rigidez e a flexibilidade deste tipo tecidual é uma tarefa difícil, tornando os reparos cirúrgicos ainda mais complexos. O tecido cartilaginoso apresenta propriedades elásticas que têm sido bastante utilizadas em procedimentos reconstrutivos. Sua utilização para a produção de biomateriais ocorre principalmente pela manutenção das características tridimensionais de sua matriz extracelular (MEC), a qual confere sustentação estrutural, mecânica e biológica para o crescimento de novas células. Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de descelularização de cartilagem de orelhas suínas, com posterior produção de biogel, o qual foi testado em lesões intra-articulares em caprino. Para isso, foram realizados pilotos com diferentes protocolos de descelularização para identificar o protocolo de maior eficácia em remoção celular e preservação da estrutura da matriz extracelular cartilaginosa. Análises histológicas, quantificação de DNA genômico, fluorescência e imuno-histoquímica foram realizadas indicando a descelularização do material. Devido à alta densidade da MEC foi necessário à utilização de uma maior quantidade de enzima, para conseguir alcançar a digestão completa do material para fabricação do biogel. Para análises no hidrogel foi executado testes de esterilizada, citotoxicidade, e também um piloto *in vivo* onde realizamos análises histológicas e imuno-histoquímica. Com isso conclui-se que a cartilagem auricular apresenta uma estrutura muito densa, com uma vasta quantidade fibras elásticas, dificultando o processo de descelularização, o protocolo utilizando tripsina e solução alcalina foi o mais eficaz (piloto 4), preservando componentes da matriz extracelular como colágeno e elatina e eliminando conteúdo celular. O biogel produzido

foi capaz de fornecer ambiente para crescimento, proliferação e migração celular, sem apresentar nenhuma resposta imunológica ao paciente.

Palavras-chave: bioengenharia de tecidos, hidrogel de cartilagem, matriz extracelular, osteoartrite, medicina regenerativa.

ABSTRACT

ANDRADE, L. M. B. **Use of decellularized auricular cartilage in the treatment of degenerative joint diseases.** 2022. 125 f. Dissertation (Master of Science) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, São Paulo, 2022.

The loss of functionality of organs and tissues due to birth defects, pathological processes or traumas has stimulated the development of tissue engineering, with the aim of repairing or even replacing damaged tissues or organs. However, one of the obstacles of this new biotechnology is the selection of the material that will reconstitute the new tissue. When it comes to joint cartilage, the challenge is even greater, as it has limited capacity for self-repair due to low vascularity. Furthermore, mimicking the rigidity and flexibility of this tissue type is a difficult task, making surgical repairs even more complex. Cartilaginous tissue has elastic properties that have been widely used in reconstructive procedures. Its use for the production of biomaterials is mainly due to the maintenance of the three-dimensional characteristics of its extracellular matrix (ECM), which provides structural, mechanical and biological support for the growth of new cells. Therefore, the objective of this work was to develop a protocol for the decellularization of porcine ear cartilage, with subsequent production of biogel, which was tested in intra-articular lesions in goats. For this, pilots were carried out with different decellularization protocols to identify the most effective protocol in cell removal and preservation of the cartilaginous extracellular matrix structure. Histological analyses, quantification of genomic DNA, fluorescence and immunohistochemistry were performed indicating the decellularization of the material. Due to the high density of the ECM, it was necessary to use a greater amount of enzyme, in order to achieve complete digestion of the material for manufacturing the biogel. For analyzes on the hydrogel, sterilization tests, cytotoxicity, and also an in vivo pilot where we performed histological and immunohistochemical analyzes were performed. With this, it is concluded that the auricular cartilage has a very dense structure, with a vast amount of elastic fibers, making the process of decellularization difficult, the protocol using trypsin and alkaline solution was the most effective (pilot 4), preserving components of the extracellular matrix such as collagen and elatin and eliminating cellular content. The produced biogel was able to provide an environment for cell growth, proliferation and migration, without presenting any immunological response to the patient.

Keywords: tissue bioengineering, cartilage hydrogel, extracellular matrix, osteoarthritis, regenerative medicine.