

BIOBANCO DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DERIVADAS DE TECIDOS PERINATAIS EM CONDIÇÕES DE BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS PARA APLICAÇÕES EM TESTES PRÉ-CLÍNICOS EM OFTALMOLOGIA

Helga Caputo Nunes Holzhausen, Caroline Nascimento Barquilha, Mariane Aparecida Risso, Damiana Pedro de Oliveira, João Pedro Arantes Aun Migueis, Ingrid Iara Damas, Ana Carolina Migliorini Figueira, Monica Alves.

Introdução: As doenças da superfície ocular (DSO) constituem uma das causas mais frequentes de procura aos ambulatorios, compreendendo um grupo heterogêneo de doenças, como olho seco, deficiência de células-tronco límbicas, síndrome de Sjögren, síndrome de Stevens-Johnson, ceratite neurotrófica, úlcera córnea, doença do enxerto versus hospedeiro, queimadura química entre outras, sendo o tratamento convencional não curativo, apresentando-se, como um grande desafio¹. O uso de tecidos perinatais como a membrana amniótica (MA) com propósitos oftalmológicos foi realizado pela primeira vez em 1940, quando De Róth propôs seu uso como o material ideal para substituir a conjuntiva danificada ao invés de utilizar a membrana da mucosa bucal, com base em sua fina, lisa e transparente estrutura no qual mimetizava o tecido nativo da conjuntiva². Desde então, diversas técnicas, e produtos baseados em tecidos, como arcabouço tridimensional descelularizado, extrato membranário concentrado em fatores de crescimento, pó liofilizado, colírio baseado em exossomos e células perinatais isoladas bem como outras formulações biológicas utilizando terapias avançadas figuram como opções inovadoras neste cenário³. Diante do exposto, objetivou-se o estabelecimento de um Master Cell Bank (MCB) em biobanco institucional em condições de qualidade de Boas Práticas Laboratoriais (BPL) constantes na Norma NIT-DICLA-035, obtendo-se então células com atestada qualidade para realização de ensaios pré-clínicos com vistas à produção de produtos de terapia avançada (PTA) para tratamento de DSO. **Métodos:** mediante aprovação ética, aprovação interna de protocolos operacionais padrão (POPs) e documentação seguindo a NIT-DICLA-035, placentas foram coletadas em centro cirúrgico e transportadas de acordo com a RDC nº504, onde então, os tecidos foram separados em “coleta placa coriônica” (CPC), “coleta vilosidade coriônica” (CVC), “coleta decídua basal” (CDB), “coleta membrana amniótica” (CMA) e coleta cordão umbilical (CCU) sendo processados de acordo com três métodos distintos para obtenção celular, a depender da composição estrutural de cada tecido sendo: digestão enzimática, dissociação mecânica e cultivo por explante levando-se em conta as especificidades nutricionais de cada tipo de cultivo bem como a administração de componentes xeno-free durante todo o processo de isolamento e cultivo, exceto no processamento do tipo digestão enzimática. Metodologia para controle de qualidade microbiológico também foi desenhado para o processo. **Resultados:** Após 48h e 72h do plaqueamento, as culturas foram analisadas quanto a morfologia, aderência ao plástico da placa de cultivo e a presença de unidades formadoras de colônias das células obtidas por cada tipo de isolamento advindas de cada tecido, bem como aspectos de ausência de contaminação microbiológica. **Conclusão:** células advindas de cada tecido foram isoladas, plaqueadas, cultivadas e congeladas para continuação do MCB em condições BPL. Os resultados iniciais aqui descritos vislumbram um salto de qualidade da pesquisa básica/pré-clínica brasileira, uma vez que a tendência global que vem se verificando, se traduz na importância dos biobancos como coleções biológicas altamente padronizadas, seguindo rígidas normas de controle e gestão da qualidade, o que gera desta maneira, alto padrão de qualidade acelerando assim, a interface entre pesquisa básica e aplicação diagnóstica e terapêutica da chamada “from

bench to bedside” levando a pesquisa brasileira a patamares elevados de qualidade e reprodutibilidade.

Referências

1. Jennifer P Craig, Monica Alves, James S Wolffsohn, Laura E Downie, Nathan Efron, Anat Galor, José Alvaro P Gomes, Lyndon Jones, Maria Markoulli, Fiona Stapleton, Christopher E Starr, Amy Gallant Sullivan, Mark D P Willcox, David A Sullivan. TFOS Lifestyle Report Executive Summary: A Lifestyle Epidemic - Ocular Surface Disease. *Ocul Surf*. 2023. 30:240-253.
2. André de Rötth. Plastic Repair of Conjunctival Defects with Fetal Membranes. *Arch Ophthalmol*. 1940;23(3):522-525.
3. Hoda Elkhenany, Azza El-Derby, Mohamed Abd Elkodous, Radwa A. Salah, Ahmed Lotfy, Nagwa El-Badri. Applications of the amniotic membrane in tissue engineering and regeneration: the hundred-year challenge. *Stem Cell Res & Ther*. 2022.13:8 -19.