



# CARACTERIZAÇÃO DE BIOMARCADORES FUNCIONAIS EM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS MURINAS MANTIDAS IN VITRO EM DIFERENTES PASSAGENS

RAFAEL OLIVEIRA<sup>1</sup>  
VANESSA PINHEIRO AMARAL<sup>2</sup>  
MELISSA CAMASSOLA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ALUNO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – BOLSISTA FAPERGS eurafaelmoraes@gmail.com

<sup>2</sup> PPGBIOSAÚDE - ULBRA vanessap.amaral@gmail.com

<sup>3</sup> PROFESSOR DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA E PPGBIOSAÚDE – melissa.camassola@ulbra.br

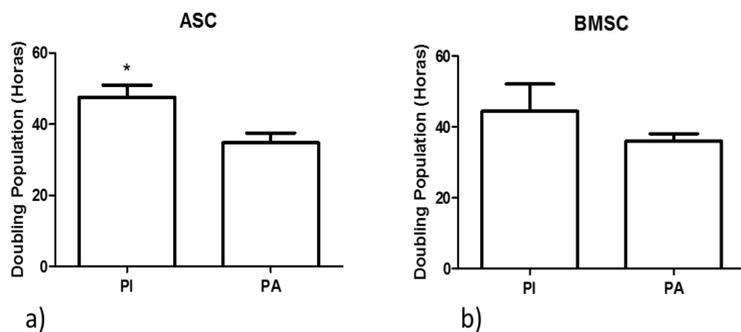
## INTRODUÇÃO

As células-tronco mesenquimais possuem potencial clínico para reparar danos ou tecidos em diferentes patologias, incluindo defeitos osteocondrais, doenças cardiovasculares, doenças neurológicas e hematopoiéticas. O cultivo celular prolongado pode induzir alterações indesejadas neste potencial de reparo das células-tronco. O presente trabalho visa comparar características de células-tronco mesenquimais entre passagens iniciais e avançadas, tanto nas células derivadas de tecido adiposo (ASC) como nas de medula óssea (BMSC).

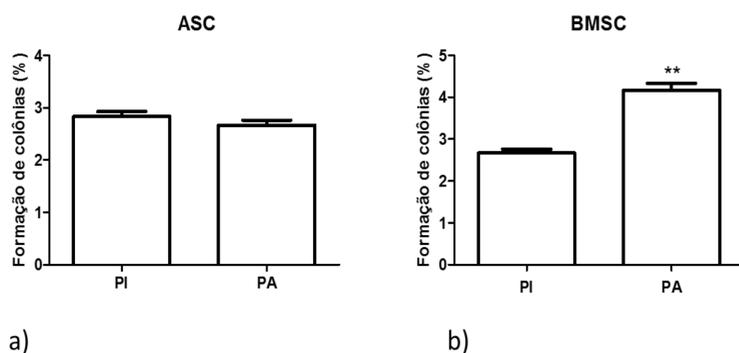
## METODOLOGIA

- Foram utilizadas células de três ratos fêmeas da linhagem Lewis. O uso dos animais foi aprovado pela Comissão de Ética da FEPPS (MEMO no. 02/201, 07 de agosto de 2013).
- *Diferenciação*: para indução da osteogênese, as células ASC e BMSC foram expostas a meio indutor durante 14 dias. Após indução as células foram coradas com Alizarin Red S durante 20 minutos para coloração da matriz resultante de cálcio.
- O tempo de duplicação da população celular (PDT – Population Doubling Time) foi calculado no programa Cell calculator – doubling time, de acordo com a seguinte fórmula:  $PDT = \text{duração} \times \log(2) / (\log(\text{concentração final}) - \log(\text{concentração inicial}))$ .
- As células foram plaqueadas em uma densidade de 200 células/poço em placas de 6 poços em triplicata. Foram consideradas colônias grupamentos com mais de 50 células. O resultado do potencial de formação de colônias foi expresso pela porcentagem de colônias formadas.
- As dosagens de Fosfatase alcalina foram realizadas usando o kit BCIP/NBT (Invitrogen).

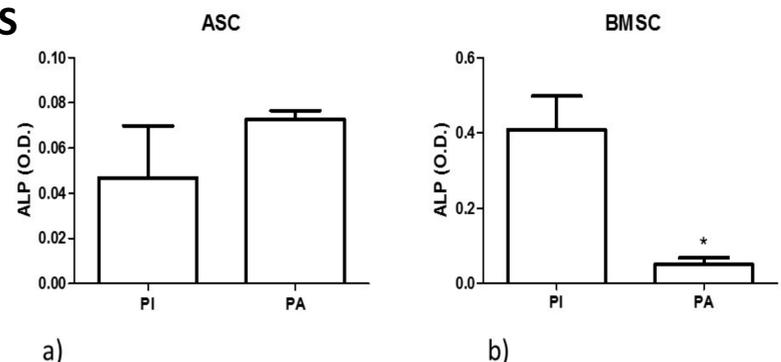
## RESULTADOS



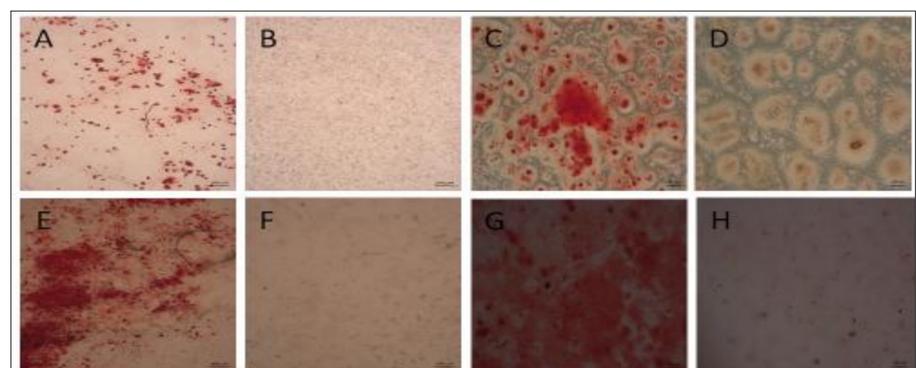
**Figura 1.** Comparação do tempo de duplicação das células ASC e BMSC em passagem inicial (PI) e passagem avançada (PA). a) ASC. b) BMSC. Tempo de duplicação expresso em horas. \*  $p < 0.05$ , (n = 3).



**Figura 2.** Comparação do potencial de formação de colônias entre passagem inicial (PI) e passagem avançada (PA). Potencial de formação de colônias expresso em porcentagem de células capazes de formar colônias. a) ASC. b) BMSC. \*\*  $p < 0.01$ , n = 3.



**Figura 3.** Quantificação da análise indireta dos níveis de ALP em ASC e BMSC em passagem inicial (PI) e avançada (PA). a) ASC e b) BMSC.  $P < 0.05$ , (n=3).



**Figura 4.** Fotos da diferenciação osteogênica de ASCs em passagens iniciais (p6) e avançadas (p40) e BMSCs iniciais (p6) e avançadas (p40). (A) ASC avançada osteo; (B) ASC avançada controle; (C) ASC inicial osteo; (D) ASC inicial controle; (E) BMSC avançada osteo; (F) BMSC avançada controle; (G) BMSC inicial osteo; (H) BMSC inicial controle. Aumento de 500x.

## CONCLUSÃO

As ASC em passagem avançada dividem mais rapidamente. As BMSC em passagem avançada formam mais colônias que BMSC em passagem inicial. Quando analisamos as duas células quanto à plasticidade osteogênica, fica claro que as BMSC são as mais recomendadas para uso terapêutico em reparações ósseas. As células-tronco mesenquimais que são mantidas em cultura precisam ser monitoradas quanto aos seus biomarcadores funcionais. São alternativas viáveis e indicadas para biomarcadores: proliferação celular, capacidade formadora de colônia e plasticidade celular.