



## OSTEOGÊNESE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS MANTIDAS EM DIFERENTES PERÍODOS IN VITRO

1. Maurício Andrade Gomes
2. Vanessa Pinheiro Amaral
3. Melissa Camassola

1. Aluno ULBRA São João – Bolsista PIBIC-EM/CNPq - [mauricioandradegomes@gmail.com](mailto:mauricioandradegomes@gmail.com)
2. PPGBioSaúde - ULBRA – [vanessap.amaral@gmail.com](mailto:vanessap.amaral@gmail.com)
3. Professor do curso de graduação em Medicina e PPGBioSaúde – [melissa.camassola@ulbra.br](mailto:melissa.camassola@ulbra.br)

### INTRODUÇÃO

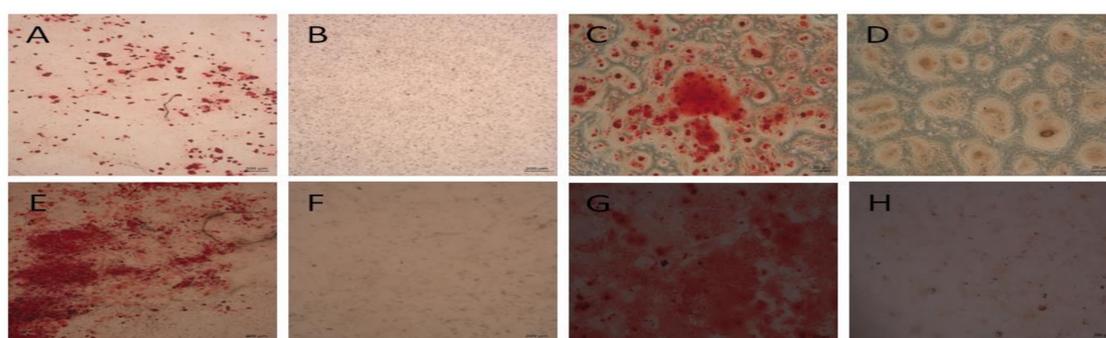
As células-tronco mesenquimais podem ser cultivadas *in vitro* por longos períodos e o cultivo celular prolongado pode induzir alterações indesejadas na sua plasticidade (Rubio et al., 2005). Apesar de conhecimentos já adquiridos até o momento, ainda é necessário explorar mais os aspectos das células-tronco mesenquimais mantidas em cultura por longos períodos. O presente trabalho visa comparar o potencial osteogênico de células-tronco mesenquimais de ratos entre passagens iniciais e avançadas, tanto para células derivadas de tecido adiposo (ASC) como para células derivadas de medula óssea (BMSC).

### METODOLOGIA

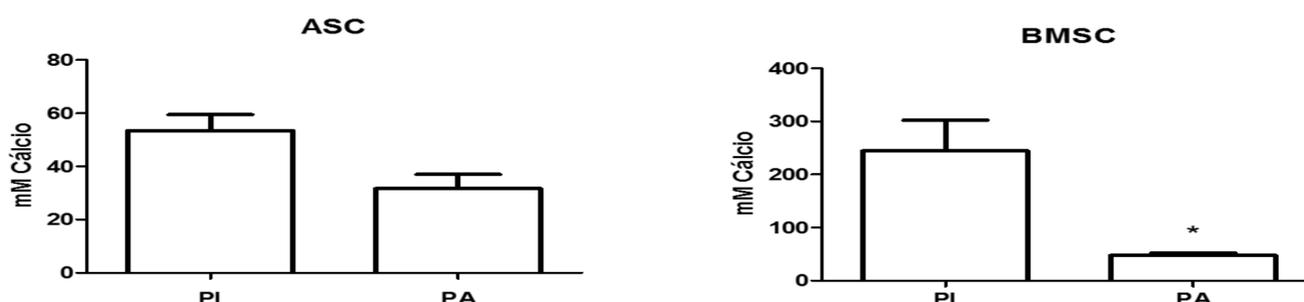
- *Animais*: Foram utilizadas células de três ratos fêmeas da linhagem Lewis com aproximadamente quatro semanas de idade. O uso dos animais foi aprovado pela Comissão de Ética da FEPPS (MEMO no. 02/201, 07 de agosto de 2013).
- *Isolamento e cultivo de rASCs e rBMSCs*: As ASC foram isoladas a partir de tecido adiposo inguinal conforme metodologia estabelecida anteriormente por nosso grupo (Meirelles e Nardi, 2003). As BMSC foram isoladas a partir do fêmur dos ratos de acordo com procedimento descrito por Meirelles e Nardi (2003).
- *Diferenciação osteogênica*: Para indução da diferenciação as células ASC e BMSC foram expostas a meio osteogênico durante 14 dias- com trocas periódicas do meio de indução
- *Análise semi-quantitativa de mineralização*: Após a coloração da diferenciação osteogênica, realizou-se uma leitura espectrofotométrica (Multiskan Ex original, serial RS-232C) a 540 nm, de uma placa de 96 poços contendo as células previamente incubadas com 500 µL de isopropanol, durante 5 min.
- Os dados são expressos em média ± desvio padrão. Teste t de Student ou ANOVA seguido de Teste de Tukey. Os resultados foram analisados e os gráficos foram gerados no programa GraphPad Prism 5 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Os valores foram considerados estatisticamente significantes para  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

Após as células terem sido coradas com alizarina elas foram processadas e a alizarina foi quantificada (Figura 1). Os valores obtidos foram expressos em mM de cálcio corado (Figura 2).



- Figura 1. 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.



- Figura 2. Quantificação da matriz de cálcio mineralizada expressa em mM nas ASC e BMSC após manutenção em meio indutor por 14 dias. PI: passagem inicial(p 6) e PA: passagem avançada(p 40). \* $p < 0,05$ ,  $n = 3$ .

### CONCLUSÃO

- Analisando as duas células quanto à plasticidade osteogênica, as BMSC são as mais recomendadas para reparações ósseas.
- O potencial osteogênico é maior nas BMSC em passagens iniciais, efeito esse detectado por aumento nos níveis de mineralização.