

## COMPARAÇÃO FUNCIONAL *IN VITRO* ENTRE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSEO DE DERMOLIPECTOMIA E LIPOASPIRAÇÃO

ROSÂNGELA DOS R. NUNES<sup>1</sup>, BRUNO BELLAGAMBA<sup>2</sup>, PATRICIA  
GRUDZINSKI<sup>3</sup>, GABRIELA PETERS<sup>4</sup>, PEDRO B. ELY<sup>5</sup>, VANESSA  
GAISSLER<sup>6</sup>, LÉO DONCATTO<sup>7</sup>, LINDOLFO DA S. MEIRELLES<sup>8</sup>.

<sup>1</sup> Mestre em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde – ULBRA – RS.

<sup>2</sup> Doutor em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde – ULBRA – RS.

<sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde –  
ULBRA – RS.

<sup>4</sup> Acadêmica de iniciação científica do curso de Biomedicina – ULBRA – RS.

<sup>5</sup> Chefe da Cirurgia Plástica da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

<sup>6</sup> Membro Associado da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica e professora  
do curso de medicina – ULBRA - RS.

<sup>7</sup> Professor Adjunto de Cirurgia Plástica do Curso de Medicina ULBRA-RS.

<sup>8</sup> Professor do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular  
Aplicada à Saúde – ULBRA – RS.

### Resumo

Células mesenquimais estromais (MSCs) são capazes de produzir melhoria no reparo dos tecidos em quase todos os órgãos do corpo, e MSCs derivadas de tecido adiposo (ATMSCs) têm sido bastante estudadas visando ao reparo tecidual. A maior parte dos trabalhos sobre ATMSCs utiliza lipoaspirados como fontes de células, e são poucos os trabalhos que utilizam amostras obtidas de dermolipectomia após cirurgia bariátrica. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo realizar uma comparação funcional *in vitro* entre ATMSCs de pacientes submetidos a cirurgia de dermolipectomia para correção de sequelas de cirurgia bariátrica e ATMSCs de tecido adiposo de pacientes submetidos a cirurgias de lipoaspiração com fins estéticos. Para tanto, as ATMSCs desses

dois grupos foram comparadas quanto a diferenciação osteogênica, diferenciação adipogênica e migração. Constatou-se que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos de ATMSCs. Esses resultados indicam que ATMSCs de ambos os tipos de pacientes apresentam propriedades semelhantes, o que valida a utilização de amostras de dermolipectomia após cirurgia bariátrica para pesquisa básica.

Palavras-chave: Obesidade. Células estromais mesenquimais. Tecido adiposo. Diferenciação. Migração.

## Introdução

Como tratamento da obesidade, cirurgias bariátricas e metabólicas têm sido realizadas para auxiliar a perda de peso (Vico et al., 2010, Frühbeck, 2015). No entanto, relatos pós-cirúrgicos referem infecção no local da incisão, demora de fechamento da lesão, deiscência, formação de hematomas, úlcera de pressão e úlcera venosa (Wagner *et al.*, 2012).

MSCs são capazes de produzir melhoria no reparo dos tecidos em quase todos os órgãos e MSCs derivadas de tecido adiposo (ATMSCs) têm sido bastante estudadas visando ao reparo tecidual.

A maior parte dos trabalhos sobre ATMSCs utiliza lipoaspirados como fontes de células pela abundância, facilidade de isolamento e estabilidade funcional (Yu et al., 2011; Zhu *et al.*, 2013; Buehrer e Cheatham, 2013) e são poucos os trabalhos que utilizam amostras obtidas de dermolipectomia após cirurgia bariátrica para esse fim (Baptista et al., 2009; Chen et al., 2012; Silva et al., 2015; Silva *et al.*, 2012). Schaffler e Buchler (2007) relatam que o tecido proveniente da dermolipectomia é normalmente descartado, sendo de fácil obtenção. Portanto, se as ATMSCs nele contidas possuem as mesmas propriedades das ATMSCs contidas no tecido proveniente do lipoaspirado, esse material biológico pode representar uma fonte importante de células para fins de pesquisa básica ou aplicada, ou ainda aplicações clínicas futuras.

Em função das diferenças fisiológicas entre pacientes obesos submetidos a cirurgia bariátrica e aqueles submetidos a lipoaspiração, que normalmente não são obesos mórbidos (Lijnen, 2008; De Lissovoy, 2009; Ennis *et al.*, 2013; Ezure e Amano, 2015; Horch, 2015), este trabalho teve

como objetivo realizar a comparação funcional *in vitro* quanto a diferenciação osteogênica, adipogênica e quanto a migração, entre células estromais mesenquimais de tecido adiposo (ATMSCs) desses dois grupos para verificar a viabilidade de utilização de ambos para fins de pesquisa evitando-se assim o desperdício de material biológico importante.

## Material e Métodos

As amostras de ATMSCs de lipoaspirados, grupo DLP, foram obtidas na Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (ISCOMPA) e as de ATMSCs pós-bariátrica, grupo DPB, no Hospital Universitário ULBRA Mãe de Deus Canoas (HU). Dez doadores participaram da pesquisa tendo sido divididos em dois grupos, 5 DLP e 5 DPB. O isolamento de ATMSCs dos grupos, foi realizado de acordo o protocolo de Meirelles e Nardi (2009). Ao longo do cultivo, as células foram imunofenotipadas por citometria de fluxo para confirmar a expressão de marcadores característicos. Foram utilizados CD31, CD34, CD45, CD90, CD105, CD106, CD146, CD11b e CD79a. Para diferenciação osteogênica e adipogênica foi utilizado o protocolo de da Silva Meirelles *et al.* (2006), Bagley *et al.* (2008) modificado para os ensaios de migração e Abramoff *et al.* (2004) para o processamento e obtenção de dados das imagens das lâminas. Os valores foram convertidos em médias e desvios-padrão, comparados por meio do teste t de Student e as diferenças com um valor de P menor que 0,05 foram consideradas significativas. A análise estatística foi realizada com o GraphPad Prism 5.

## Resultados

Todos os doadores de ambos os grupos expressaram CD90 e CD105. Após a realização dos experimentos propostos, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre ATMSCs dos dois grupos. Ambos apresentaram capacidade de diferenciação osteogênica e adipogênica, bem como capacidade de migração frente à solução de 15% de SFB confirmando o potencial que estas células apresentam para utilização em pesquisa.

## Discussão

No estudo funcional de ATMSCs, Baptista *et al.* (2009), Chen *et al.* (2012) e Silva *et al.* (2015) encontraram resultados semelhantes aos de nosso grupo excetuando-se a diferenciação adipogênica onde os grupos de Baptista, Chen e Silva encontraram diferenças estatisticamente significantes quando comparados obesos e não obesos. No entanto, ressalta-se que a análise realizada pelos três grupos utilizou parâmetros diferentes daqueles que nós utilizamos.

Nosso grupo avaliou também a capacidade de migração das células frente a um quimioatraente em função das possibilidades de utilização relacionadas ao reparo tecidual. Como o reparo tecidual de pacientes obesos é geralmente mais complicado que o de pacientes não obesos, esperava-se que houvesse uma diferença entre o comportamento das ATMSCs de doadores dos dois grupos, o que não foi observado. É possível que as alterações no processo de reparo tecidual observadas em obesos (Lijnen, 2008; Dragu *et al.*, 2012; Wagner *et al.*, 2012; Reckhenrich *et al.*, 2014; Horch 2015) estejam relacionadas às comorbidades associadas à obesidade, e não propriamente à qualidade das ATMSCs desses pacientes. Nesse sentido, Murshid *et al.* (2009) Vico *et al.* (2010) também constaram que a morbidade e a taxa de complicações entre esses grupos não foram estatisticamente significativas, vindo de encontro a nossos achados.

## Considerações finais

Em todos os ensaios *in vitro*, as ATMSCs de doadores pertencentes a ambos os grupos tiveram comportamentos semelhantes o que se confirmou ao realizarmos as análises estatísticas. Isso indica que ATMSCs obtidas de pacientes submetidos a cirurgia plástica para correção de sequelas de cirurgia bariátrica não apresentam desvantagens em relação a ATMSCs obtidas de pacientes submetidos a lipoaspiração com fins estéticos. Essa constatação indica, ainda, que fragmentos de tecido adiposo que seriam descartados após cirurgias de correção de sequelas de cirurgia bariátrica deveriam ser mais frequentemente utilizados para pesquisas que envolvam ATMSCs, a fim de se evitar o desperdício desse material biológico.

## Referências

- ABRAMOFF, M. D.; MAGALHAES, P. J.; RAM, S. J.. **Image Processing with ImageJ**. Biophotonics Int. 2004; 11(7): 36-42.
- BAGLEY, R. G. et al. Endosialin/TEM 1/CD248 is a pericyte marker of embryonic and tumor neovascularization. **Microvascular Research**, [s.l.], v. 76, n. 3, p.180-188, nov. 2008. Elsevier BV.
- BAPTISTA, L. S. et al. Adipose Tissue of Control and Ex-Obese Patients Exhibit Differences in Blood Vessel Content and Resident Mesenchymal Stem Cell Population. **Obesity Surgery**, [s.l.], v. 19, n. 9, p.1304-1312, 27 jun. 2009. Springer Science + Business Media.
- CHEN, J.; SPAGNOLI, A.; TORQUATI, A.. Adipogenic differentiation of adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells: effect of gastric bypass surgery. **Surgical Endoscopy**, [s.l.], v. 26, n. 12, p.3449-3456, 31 maio 2012. Springer Science + Business Media.
- MEIRELLES, L. da S.. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. **Journal Of Cell Science**, [s.l.], v. 119, n. 11, p.2204-2213, 9 maio 2006. The Company of Biologists.
- MEIRELLES, L. S.; NARDI, N. B.. **Methodology, biology and clinical applications of mesenchymal stem cells**. Front Biosci (Landmark Ed). 2009; 14: 4281-98.

## Agradecimentos

Ao Laboratório de Células-Tronco e Engenharia de Tecidos da Universidade Luterana do Brasil – ULBRA, onde foram realizados os procedimentos necessários a este trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - FAPERGS e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, cujos recursos financiaram o trabalho.