

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE CÉLULAS COM MARCADORES DE CÉLULAS PERIVASCULARES NO SANGUE PERIFÉRICO APÓS LESÃO INDUZIDA POR EXERCÍCIO FÍSICO

FRAGA, Luiza F.¹; ÁVILA, Thailine²; GARLIPP, Daniel³; MEIRELLES, Lindolfo⁴.

Palavras-chave: células mesenquimais; pericito; lesão muscular.

As células estromais mesenquimais (MSCs) são células que, em cultura, apresentam ampla capacidade de diferenciação em adipócitos, condrócitos e osteoblastos. Os pericitos envolvem as células endoteliais dos vasos sanguíneos, e já foi proposto pelo nosso grupo que, durante e após lesão tecidual, os mesmos são ativados e mobilizados para a corrente sanguínea, e podem originar as MSCs. A molécula CD271 é um marcador de superfície de células que dão origem à cultura de células estromais mesenquimais. Para esse estudo, participantes forneceram uma amostra de 5mL de sangue, três dias após sofrerem lesão muscular induzida por exercício físico. As amostras foram incubadas com solução de lise de hemácias, lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS), contadas, e dispensadas em tubos de citometria de fluxo. Os anticorpos usados correspondem a marcadores desses pericitos – CD271, CD34, NG2 e CD140b. Após os anticorpos e seus controles serem adicionados aos tubos de citometria, as amostras foram incubadas por 30 minutos, lavadas, ressuspensas em 300 µL de PBS e lidas em um citômetro de fluxo Accuri C6 (BD Biosciences), com um mínimo de 50.000 eventos coletados. Para abordagem sobre a presença de MSCs no sangue, amostras de sangue periférico dos participantes foram incubadas com solução de lise de hemácias, lavadas e contadas. As células foram ressuspensas em meio de cultura DMEM com 10% de soro fetal bovino, e incubadas a 37°C. Primeiramente, o resultado de cinco indivíduos utilizando apenas o anticorpo anti-CD271 conjugado com FITC apontava a grande possibilidade de pericitos originarem as células estromais mesenquimais. Após estes resultados, analisamos a amostra de mais pacientes. Desta vez, utilizamos um tubo de coleta com EDTA ao invés de heparina. Também avaliamos a frequência de células positivas para outros marcadores de pericitos. Os falsos positivos do anticorpo anti-CD271 conjugado com FITC foram acusados ao usarmos o mesmo anticorpo marcado com Alexa Fluor 647. Quando o marcador CD34 foi avaliado, constatou-se a presença de células fracamente positivas com tamanho e granulosidade de monócitos antes da lesão, e células positivas para este marcador não foram detectadas após a lesão. A utilização de anticorpos anti-NG2 e anti-CD140b mostrou que, em essência, não havia células com esses marcadores no sangue após a

¹ Aluna de Ciências Biológicas na Ulbra, Bolsista FAPERGS no PPGBioSaúde – Ulbra, luizafurlanetto_@hotmail.com.

² Aluna do curso de graduação Biomedicina – avila.thailines@gmail.com;

³ Professor do curso de Educação Física – dcdgarlipp@gmail.com;

⁴ Professor do PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde – lindolfomeirelles@gmail.com

lesão muscular induzida por exercício físico. A inabilidade das células da ampla maioria dos participantes formarem colônias mesenquimais em cultura também indica a possibilidade das células CD271+ encontradas primeiramente não serem pericíticas. A conclusão a que chegamos é que a lesão induzida pelo exercício físico não causa mobilização de células pericíticas para o sangue. Os métodos estabelecidos durante a execução deste projeto serão utilizados para a detecção de células com marcadores de pericitos em outros modelos de lesão tecidual no futuro.