



ESTUDO DAS INTERAÇÕES ENTRE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS E CÉLULAS ENDOTELIAIS

Felipe de Almeida Narciso¹⁻², Bruno Corrêa Bellagamba¹, Pedro Bins Ely³, Lindolfo da Silva Meirelles¹.

¹Laboratório de Células-tronco e Engenharia de Tecidos, PPGBioSaúde/ULBRA, Canoas, RS.

²Curso de Biomedicina/ULBRA, Canoas, RS.

³Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, RS.

Contatos: felipenarciso95@hotmail.com; brunobellagamba@gmail.com; pedrobinsely@terra.com; lindolfomeirelles@gmail.com

INTRODUÇÃO AO ESTUDO

As células-tronco mesenquimais (CTMs) são encontradas em quase todos os órgãos e tecidos pós-natais, por estarem associadas aos vasos sanguíneos¹. As paredes internas dos vasos sanguíneos são formadas por células endoteliais (CEs). Em volta desses vasos sanguíneos há a participação de pericitos. Pericitos são células que estabilizam os vasos sanguíneos, auxiliam o organismo em sua homeostase e ainda podem dar origem as CTMs². As CTMs podem ser utilizadas como agentes terapêuticos em diversos tipos de lesões e doenças de nosso organismo e, por isso, são de grande importância para a medicina regenerativa e a engenharia de tecidos³.

Este estudo tem como objetivo analisar as interações entre CTMs e CEs *in vitro* e também investigar possíveis alterações fenotípicas induzidas pelo contato entre essas células durante o cocultivo.

METODOLOGIA

Neste estudo estamos utilizando CTMs humanas e uma linhagem de células endoteliais derivada de hemangioendotelioma de camundongos (EOMA)⁴. O cultivo dessas células (Fig. 1) é realizado em estufa a 37°C em atmosfera umidificada e com 5% de CO₂. O isolamento de CTMs é feito por digestão enzimática de tecido adiposo obtido através de cirurgias de lipoaspiração realizadas em pacientes da Santa Casa de Porto Alegre. As CTMs e as CEs foram cocultivadas por 15 dias e receberam troca do meio de cultura a cada 3 dias. Repiques da população foram realizados utilizando-se solução de Hank's/EDTA e tripsina. A taxa de repique utilizada foi de 1:4. O meio de cultura das CTMs foi DMEM suplementado com HEPES, 10 % de soro fetal bovino (SFB) e antibióticos. Para as CEs foi utilizado o mesmo meio de cultura.

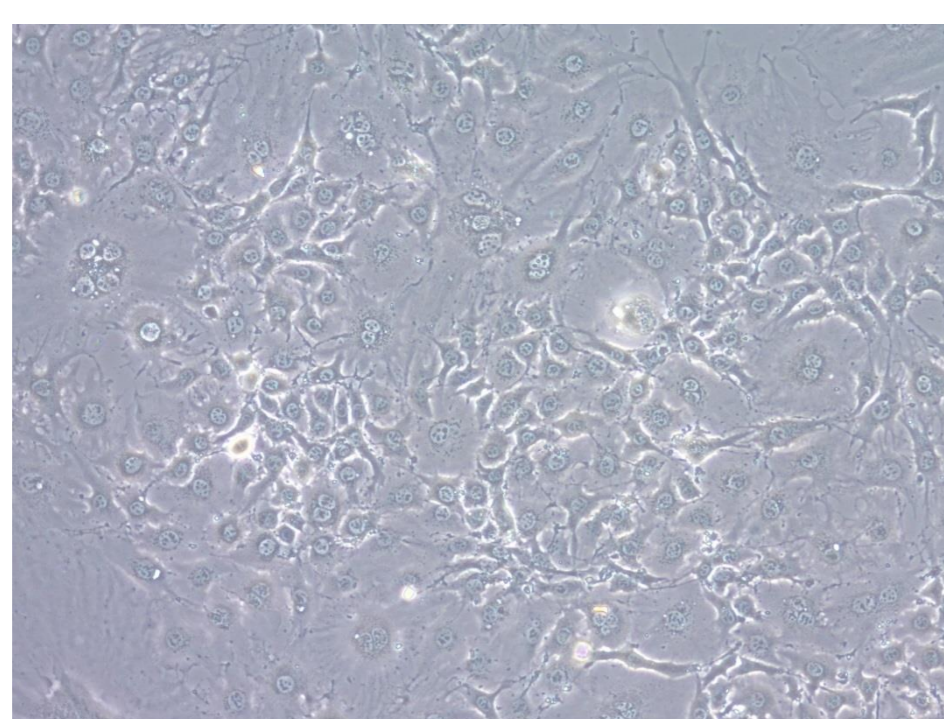


Figura 1: Células EOMA cultivadas em meio DMEM, visualizadas em aumento de 100x.

RESULTADOS PARCIAIS

As CTMs apresentaram morfologia característica (Fig. 2). Houve uma proliferação de 0,334 duplicações da população por dia. Além disso, o cocultivo dessas células com as células EOMA após 3 dias (Fig. 3) originou estruturas semelhantes a capilares sanguíneos em meio a aglomerado de células. Essas estruturas se mantiveram por 15 dias e foram visualizadas em corante fluorescente (Fig. 4). Nenhum dos tipos celulares utilizados é capaz de dar origem a estruturas semelhantes a capilares sozinho.

Através de análise no microscópio invertido, confirmou-se que as células EOMA em interação com as CTMs deram origem a essas estruturas.

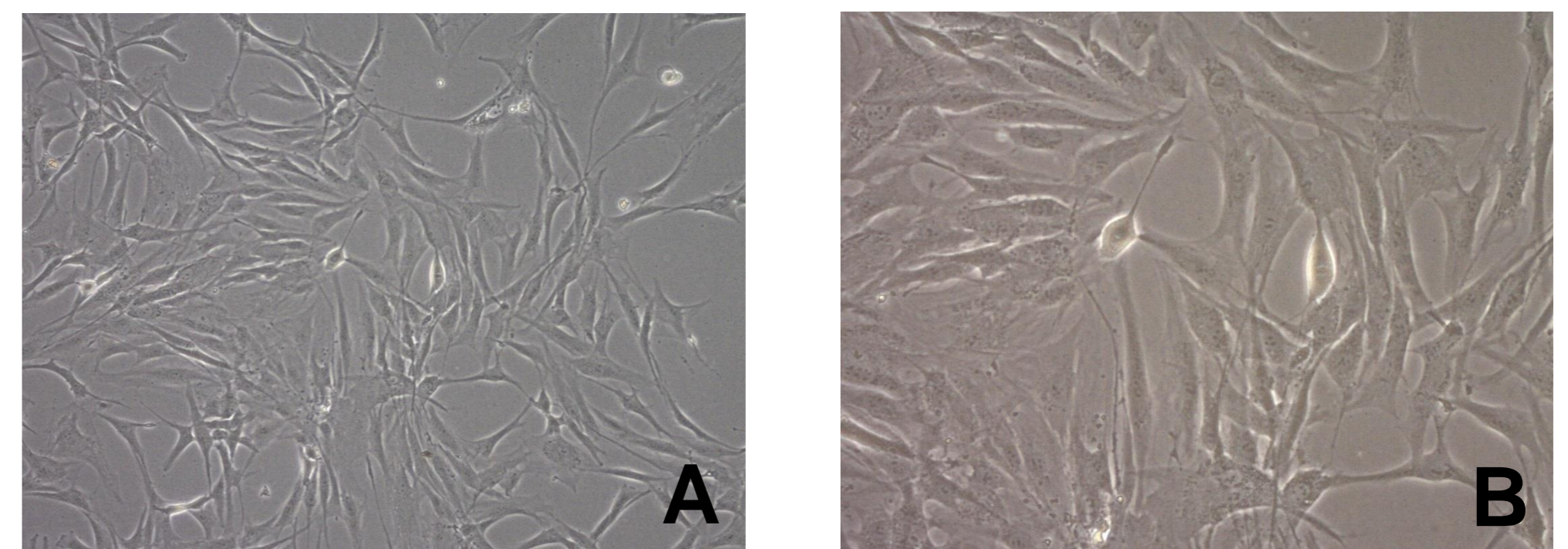


Figura 2: CTMs em cultivo convencional visualizadas em (A) 100x e em (B) 200x.

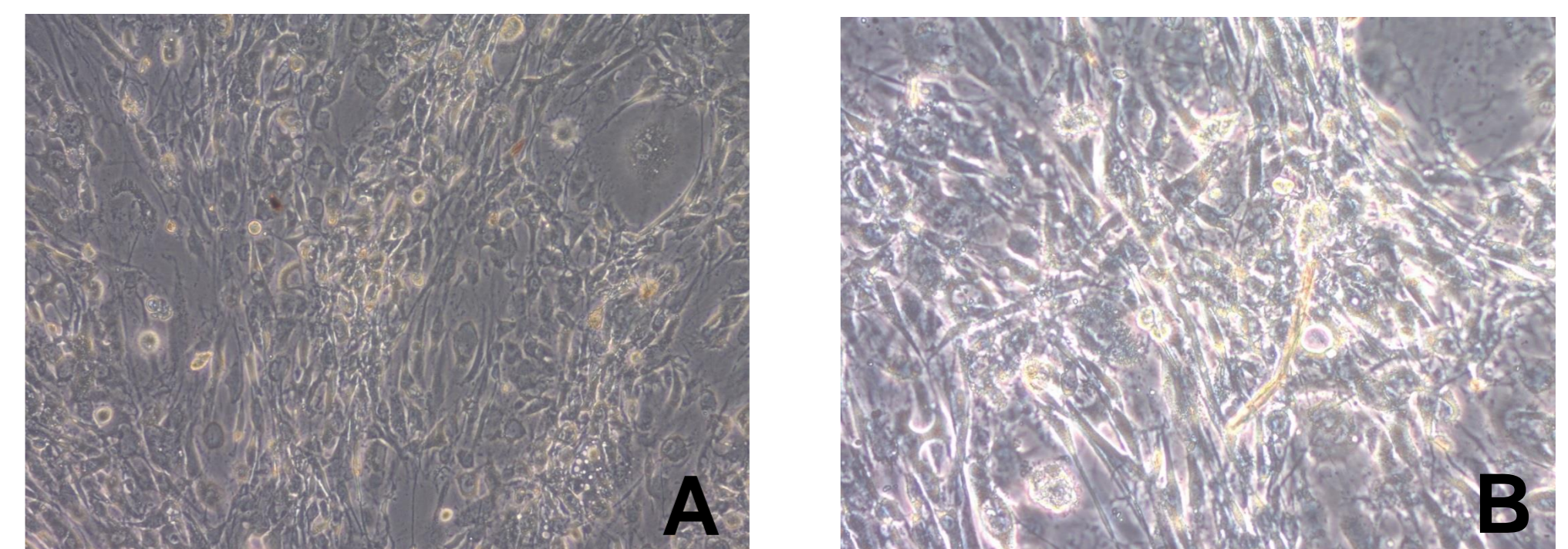


Figura 3: Células EOMA em cocultivo com as CTMs após 3 dias em aumento de (A) 100x e (B) 200x.

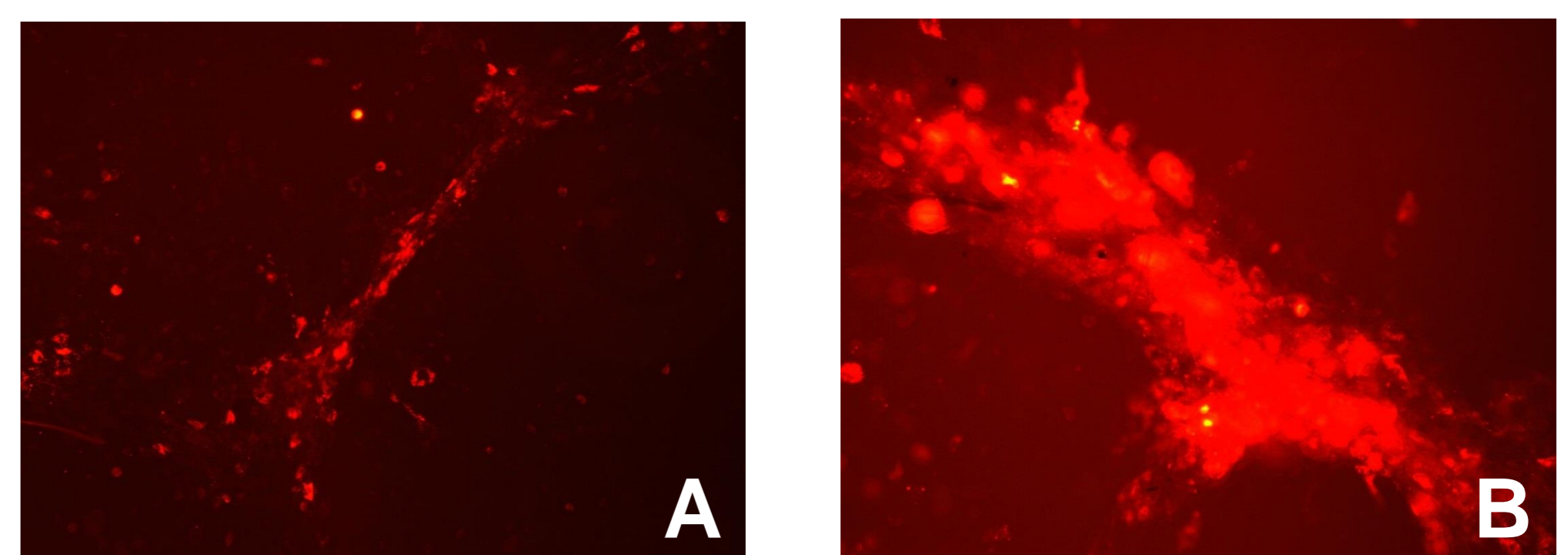


Figura 4: Células EOMA cultivadas após 15 dias com as CTMs. Visualização com corante fluorescente em (A) 100x e em (B) 200x.

CONCLUSÕES PARCIAIS

Conclui-se que as estruturas semelhantes a capilares foram formadas pelas EOMA, devido ao contato com as CTMs. Como perspectivas para o estudo, pretende-se dar continuidade ao mesmo através de coleta de tecido adiposo humano para fazer isolamento de CEs humanas e realizar análises moleculares mais detalhadas em relação as interações que ocorrem entre as CEs e as CTMs.

BIBLIOGRAFIA

- ¹da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. **Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues.** J Cell Sci. 2006;119:2204-13.
- ²da Silva Meirelles L, Caplan AI, Nardi NB. **In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells.** Stem Cells. 2008;26(9):2287-99.
- ³Garcia-Gomez I, Elvira G, Zapata AG, Lamana ML, Ramirez M, Castro JG, et al. **Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications.** Expert Opin Biol Ther. 2010;10(10):1453-68.
- ⁴Obeso J, Weber J, Auerbach R. **A hemangioendothelioma-derived cell line: its use as a model for the study of endothelial cell biology.** Lab Invest. 1990;63(2):259-69.