



CAPACIDADE OSTEOGÊNICA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DE TECIDO ADIPOSE DE CÃES ASSOCIADAS A ALFA FOSFATO TRICÁLCICO POROSO.

Fortes, L. C.¹, Cezar, R. da S.¹, Dorneles, M.^{1,2}, Porto, M.¹, Paiva, B.¹, Santos, L. A.³, Nardi, N. B.^{1,2}, Camassola, M.¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia celular e Molecular Aplicada à Saúde – ULBRA

² CellMed Medicina Veterinária Regenerativa.

³ Departamento da Faculdade de Engenharia de Materiais – UFRGS

INTRODUÇÃO

As células-tronco, especialmente células-tronco mesenquimais (mesenchymal stem cell – MSC), são adequadas para aplicações na engenharia de tecidos, devido ao seu potencial de diferenciação. As células-tronco derivadas de tecido adiposo (*adipose derived stem cell* -ASCs) são de fácil obtenção e representam uma opção promissora para terapia celular. Em protocolos de engenharia de tecidos *in vitro* são usados três elementos principais: células, biomateriais e biomoléculas. O biomaterial serve como um suporte para as células. O cimento de alfa fosfato tricálcico (α -TCP) é um material cerâmico bastante utilizado em protocolos de indução osteogênica. O α -TCP não possui toxicidade relatada *in vitro* ou *in vivo*, é biodegradável e tem uma boa capacidade para ser substituído pelo osso em comparação a outros biomateriais.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi isolar as células-tronco derivadas de tecido adiposo de cães, caracterizar em diferentes passagens e associar a α -TCP poroso.

METODOLOGIA

As células foram isoladas usando colagenase tipo I e foram mantidas *in vitro* até a passagem 15, passagens iniciais (<10) e intermediárias (>10). Durante essas passagens, foram caracterizadas quanto a sua taxa de expansão e diferenciação osteogênica, condrogênica e adipogênica. Para quantificação da osteogênese, foi quantificada a atividade de fosfatase alcalina (ALP). A indução foi feita durante em 3 e 11 dias em cultivos 2D (bidimensional) e 3D (tridimensional, associado a α -TCP poroso). A associação das células ao biomaterial foi observada por microscopia eletrônica de varredura (realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica e Microanálise da ULBRA).

RESULTADOS

Seguem os principais resultados de cada figura: Fig. 1 – as cASCs apresentaram potencial de diferenciação celular. Fig.2 - As células proliferaram sem diferença significativa tanto em passagens iniciais como intermediárias. Fig. 3 – As células associadas ao biomaterial apresentaram morfologia semelhante a osteoblastos. Fig. 4 – Os níveis de ALP foram maiores após 11 dias de indução na forma de cultivo 2D.

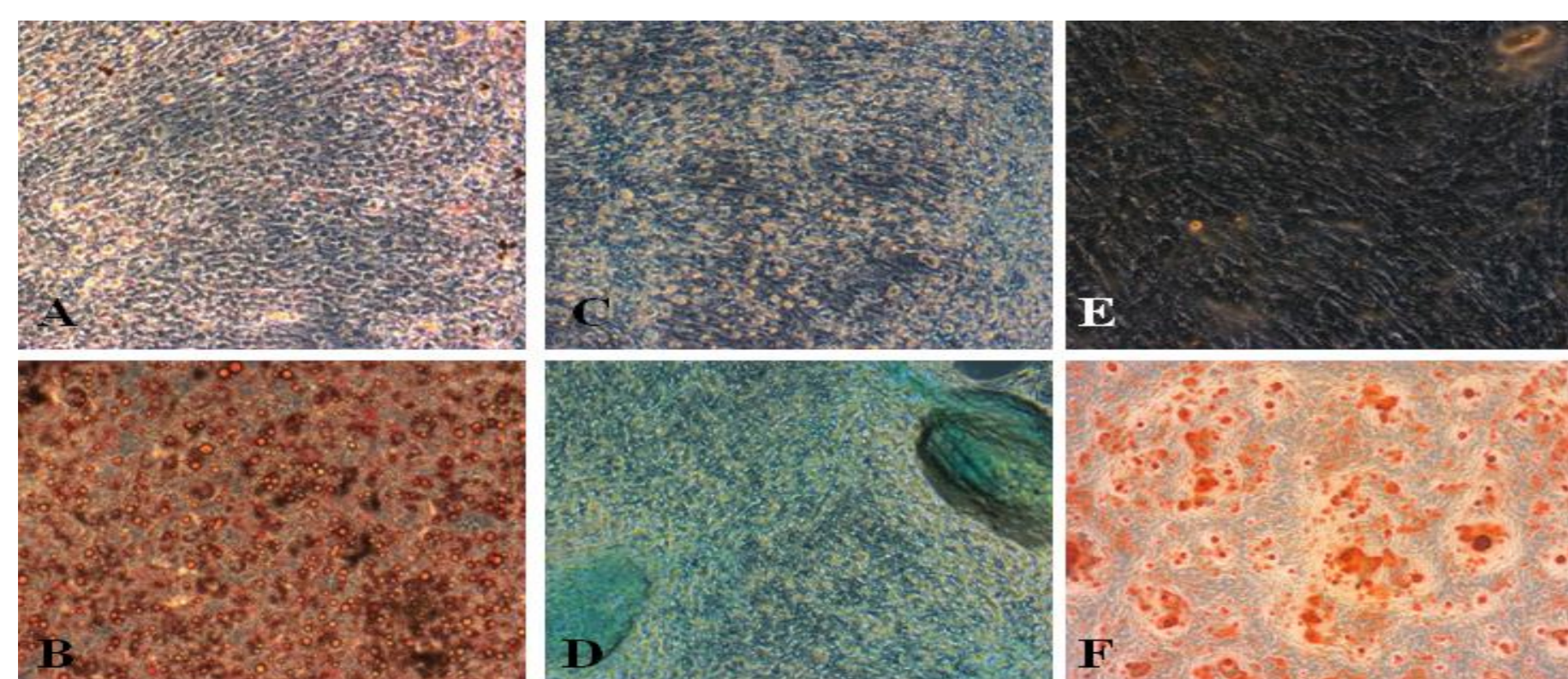


Fig. 1: Morfologia das cASCs indiferenciadas e diferenciadas, coradas. (A–E) cASCs indiferenciadas e coradas com oil red, alcian blue e alizarina red S respectivamente. (D-F) cASCs diferenciadas e coradas com oil red, alcian blue e alizarina red S respectivamente. Aumento: 100 x.

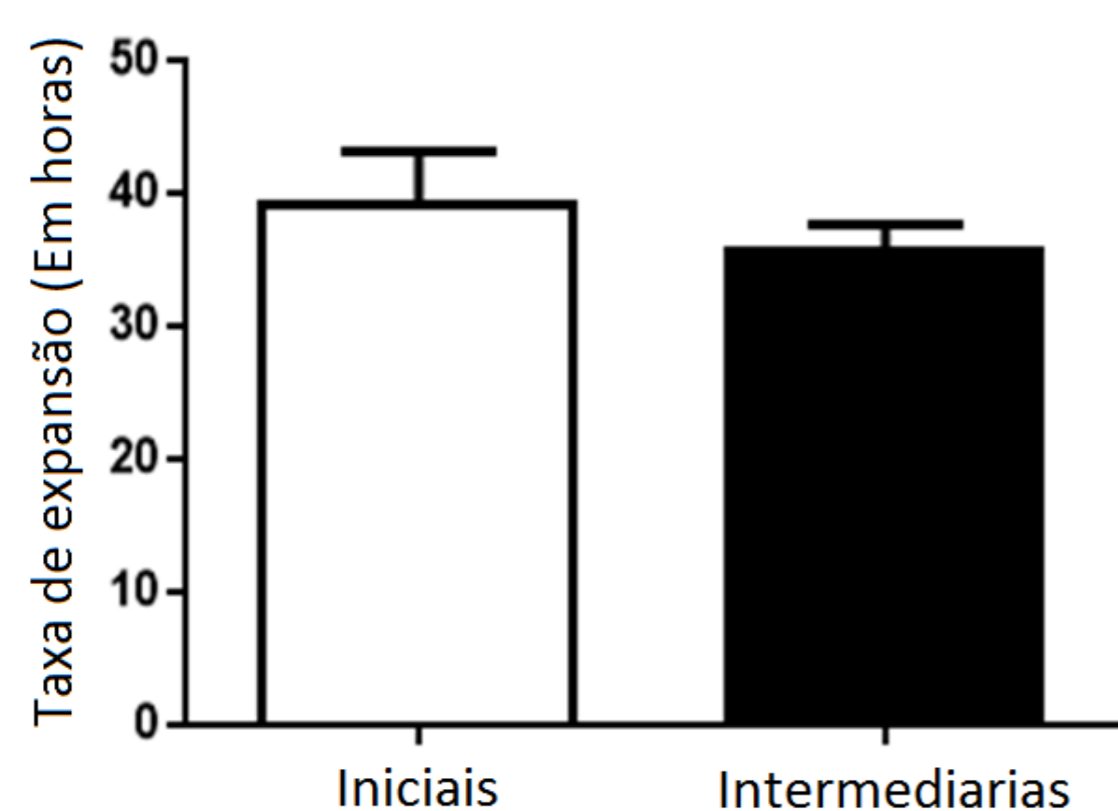


Fig 2. Taxa de expansão das cASCs em placas de cultura. O eixo y representa o tempo (h) necessário para uma divisão celular.

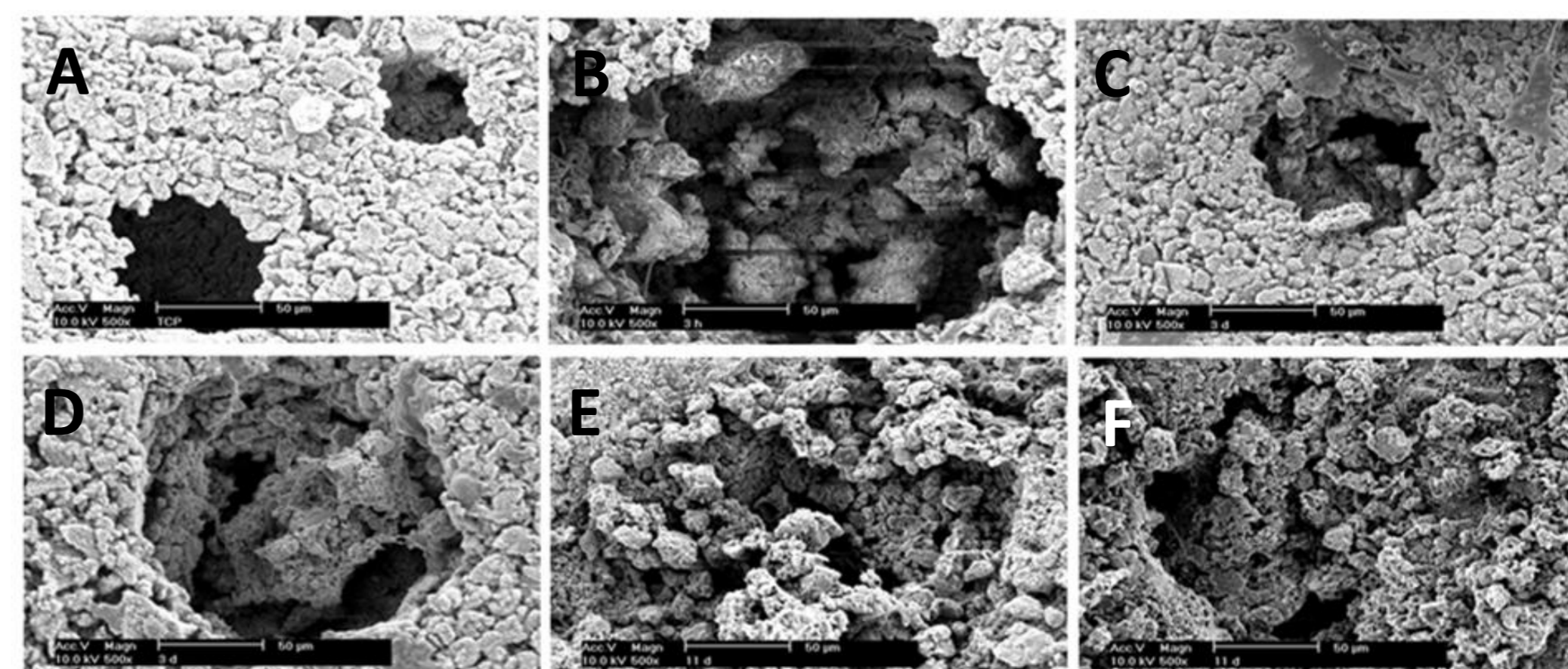


Fig. 3: Microscopia eletrônica de Varredura. (A) biomaterial sem células, (B) biomaterial com células aderidas durante 3 horas, (C) biomaterial com células incubadas por 3 dias em meio controle (não indutor), (D) biomaterial com células incubadas por 3 dias em meio osteogênico, (E) biomaterial com células incubadas por 11 dias em meio controle, (F) biomaterial com células incubadas por 11 dias em meio osteogênico. Aumento: 500 X.

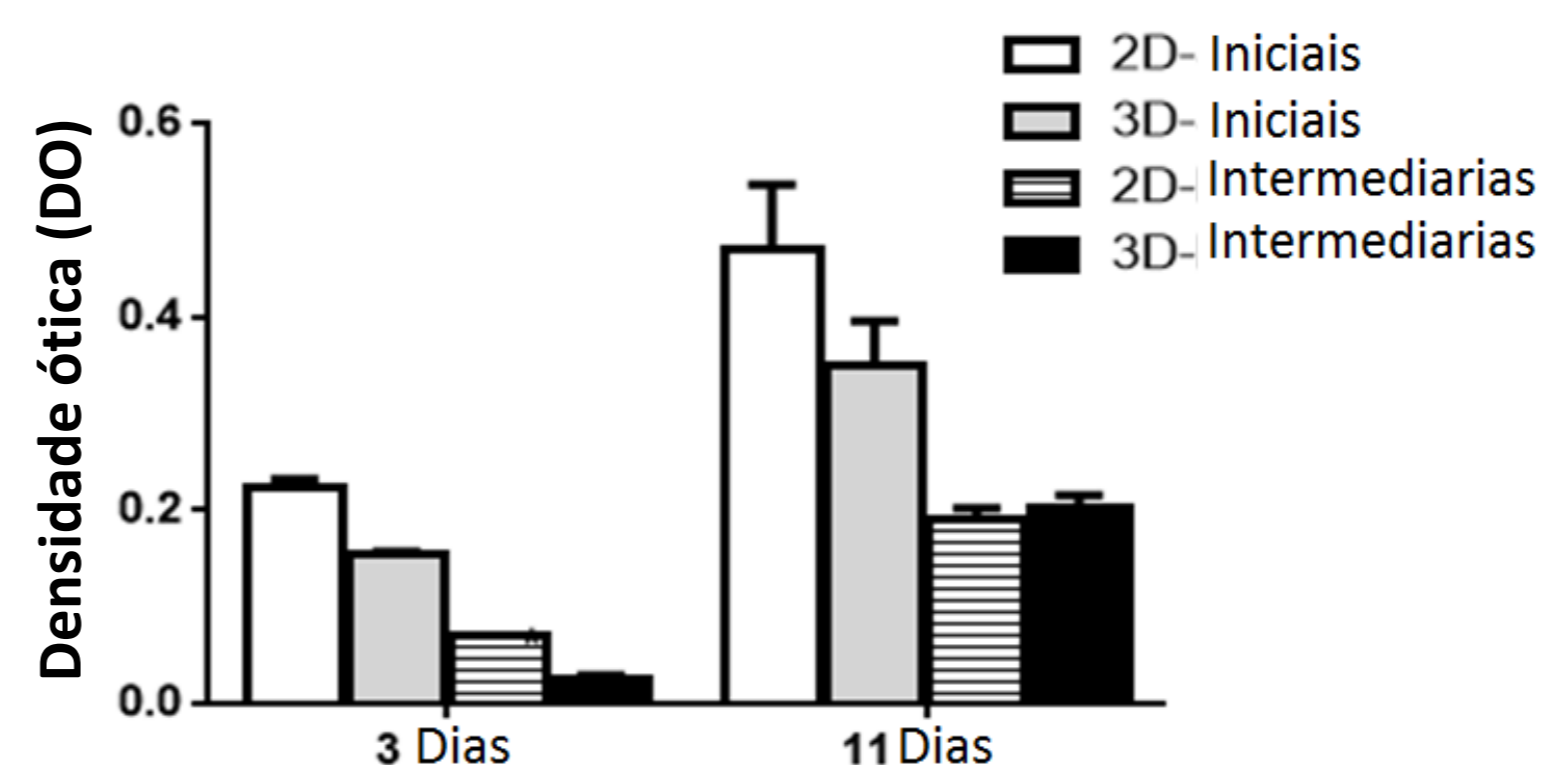


Fig. 4: Quantificação da atividade de Fosfatase Alcalina.

CONCLUSÃO

As cASCs associadas ao biomaterial aderiram ao α -TCP poroso. As cASCs exibiram capacidade osteogênica mesmo em meio controle quando associadas ao biomaterial indicando que o próprio α -TCP tem papel indutor. Este trabalho evidencia o potencial osteogênico das cASCs quando mantidas em ambiente 3D.

APOIO: CNPq, CAPES, FAPERGS e ULBRA.