



ESTUDO DA MIGRAÇÃO E DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS EM ÁCIDO HIALURÔNICO, INJETADAS EM RATOS WISTAR



Gabriel Peres¹, Thiago B. Ribeiro², Marcos Zanfolim³, Delma P. Alves⁴, Li Li Min⁵, José Vassalo⁶, Ângela C. M. Luzo⁷, Paulo Kharmandayan⁸.

¹Acadêmico de Graduação em Medicina 6º ano FCM/UNICAMP; ²Pós-Graduando - HEMOCENTRO / UNICAMP; ³Pesquisador CEMIB / UNICAMP; ⁴Professora Doutora - Presidente do Conselho Científico Diretora do CEMIB / UNICAMP; ⁵Professor Doutor - Disciplina de Neurologia - FCM / UNICAMP; ⁶Professor Doutor - Disciplina de Anatomia Patológica - FCM / UNICAMP; ⁷(Co-Orientadora) - Diretora Médica do Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário HEMOCENTRO / UNICAMP; ⁸(Orientador) - Professor Doutor - Disciplina de Cirurgia Plástica - FCM / UNICAMP.

**Financiamento:
PIBIC - SAE/UNICAMP**

Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

INTRODUÇÃO

As terapias regenerativas, a partir da engenharia de tecidos, poderão contemplar diferentes demandas da prática médica, tendo nos estudos com células-tronco (CT), o eixo principal de aplicação, tendo em vista o seu grande potencial de diferenciação. Fatores importantes a serem considerados compreendem os biomateriais nos quais as CT são semeadas e a presença de estímulos nicho-específicos, que influenciam diretamente na migração e diferenciação celular. As Células-Tronco Mesenquimais (CTM) podem se diferenciar em células de diferentes linhagens: condrócitos, adipócitos, osteoblastos, fibroblastos ou neurônios. Este trabalho preza-se a avaliar a migração e diferenciação de CTM, obtidas de tecido adiposo lipoaspirado e injetadas com Ácido Hialurônico (AH), em ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

CTM foram obtidas de tecido adiposo humano lipoaspirado, marcadas com BrDU, nanopartículas de ferro e injetadas com AH em quatro ratos Wistar. Procedeu-se punção com agulha próxima a orelha contralateral para indução de possíveis fatores pró-migratórios. Um animal foi designado a controle com procedimento idêntico, porém com solução salina 0,9% substituindo as CTM



Figura 1. Suspensão de CTM em AH



Figura 2. Injeção do preparo: CTM + AH

Após cinco semanas, os animais foram anestesiados e submetidos a Ressonância Nuclear Magnética (RNM) para identificação das CTM marcadas com nanopartículas.

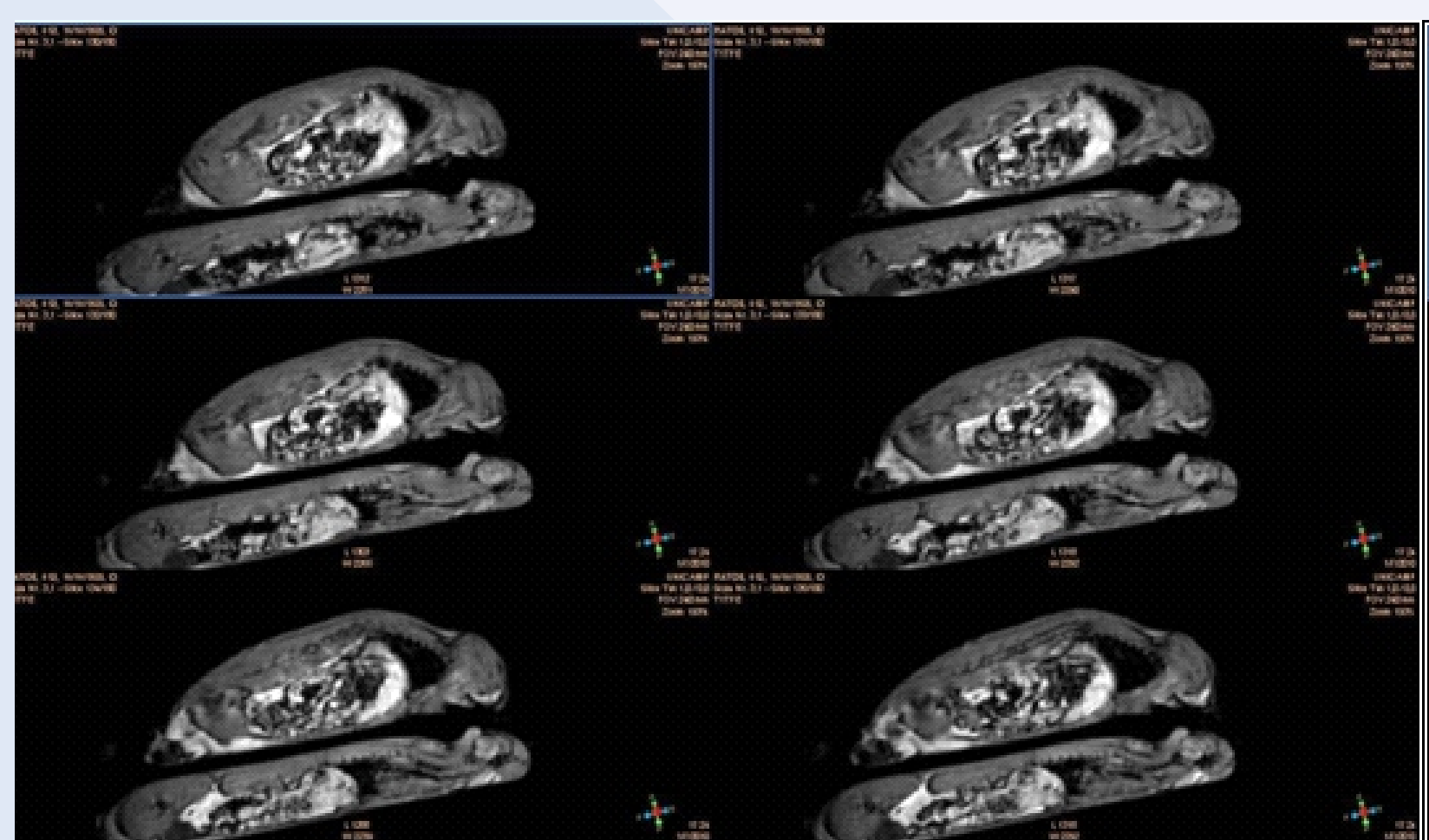


Figura 3. Imagens de RNM, em corte sagital, dos ratos em que foram infundidas a suspensão de AH com CTM, marcadas com nanopartículas de ferro e BrDU, além do animal controle.

Uma vez que nenhuma imagem sugestiva foi identificada, limitou-se a ressecção às áreas de injeção e contralaterais.



Figura 4. Dissecção do lado em que foi injetada a suspensão de CTM em AH.



Figura 5. Amostra de tecido retirado para análise.

Os tecidos foram analisados através de técnicas imunohistoquímicas para BrDU e histológicas por Hematoxilina e Eosina (HE) e Azul da Prússia (AP).

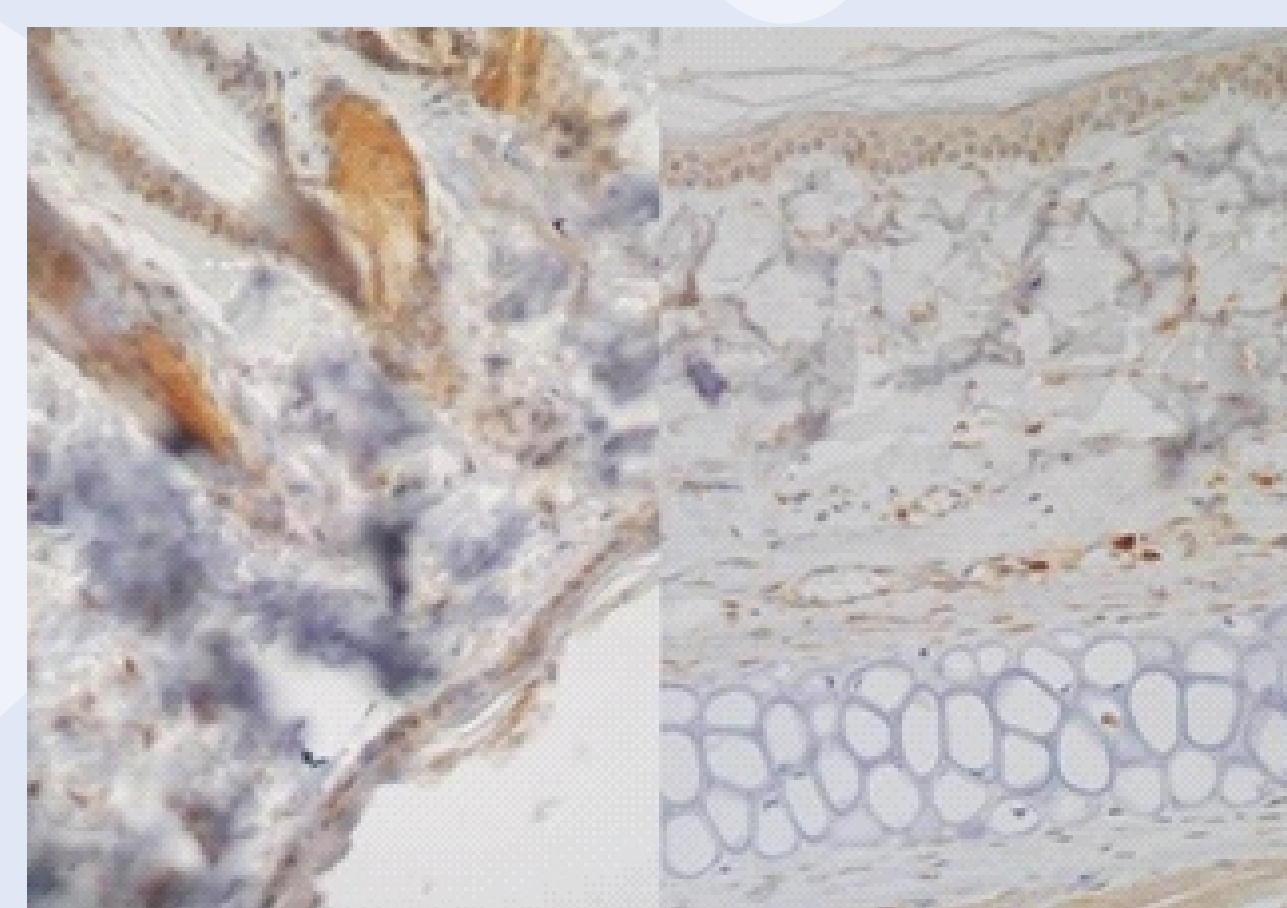


Figura 6. Imunohistoquímica dos animais em que foram injetadas AH + CTM.

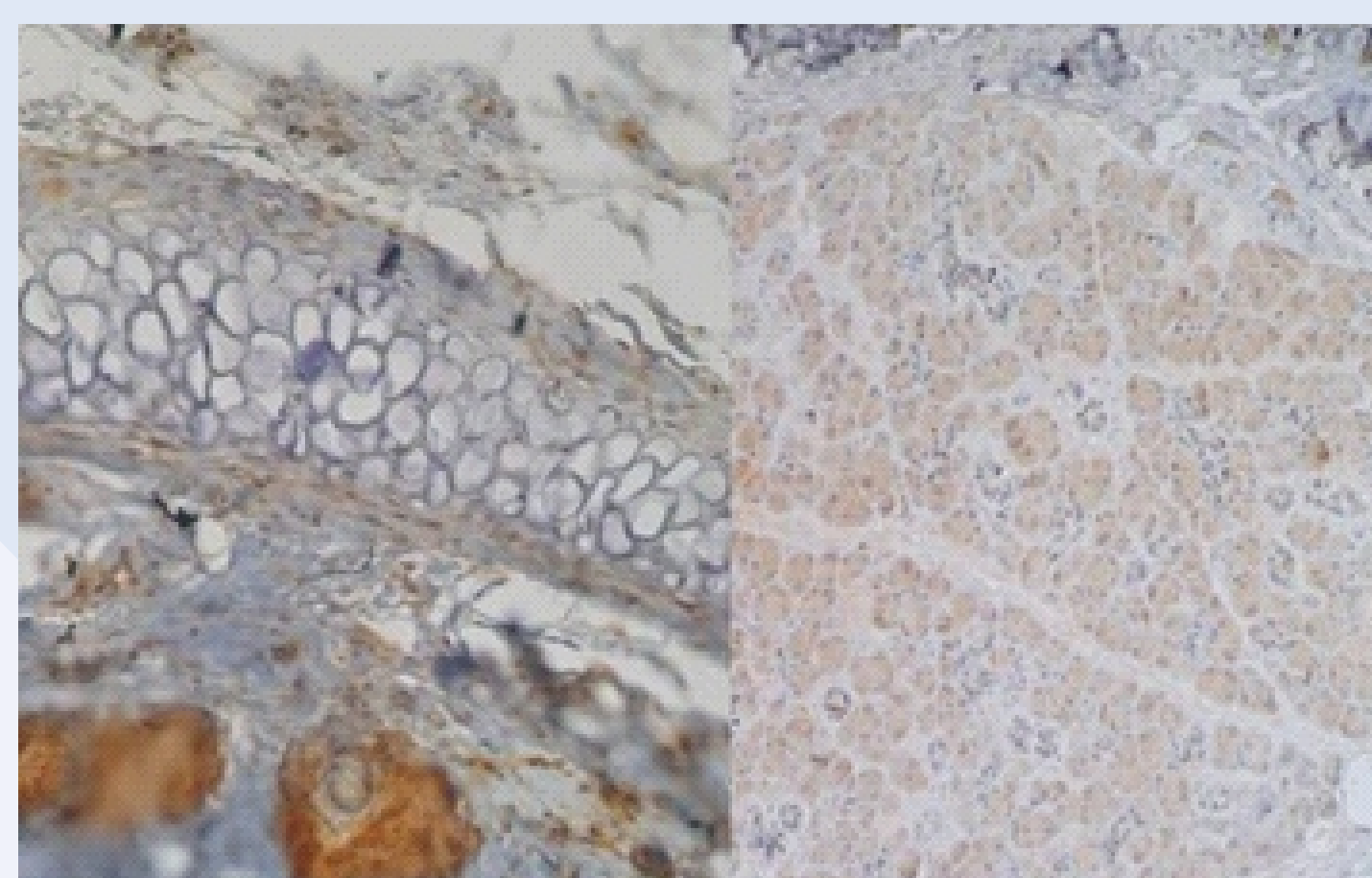


Figura 7. Imunohistoquímica do animal controle

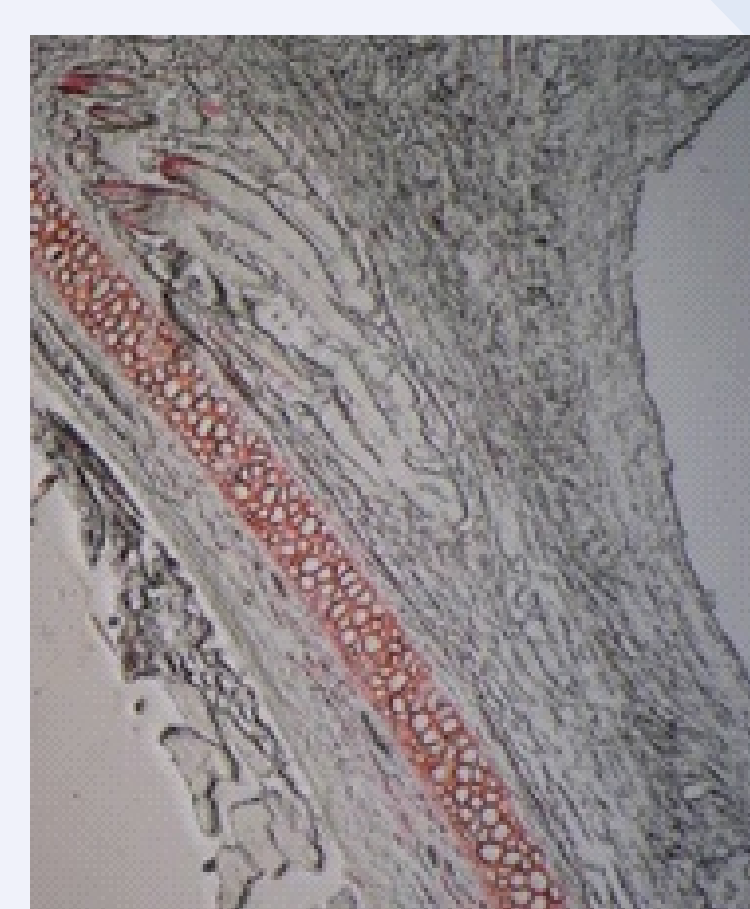


Figura 8. Lâmina em Azul da Prússia dos animais em que foram injetadas AH + CTM.

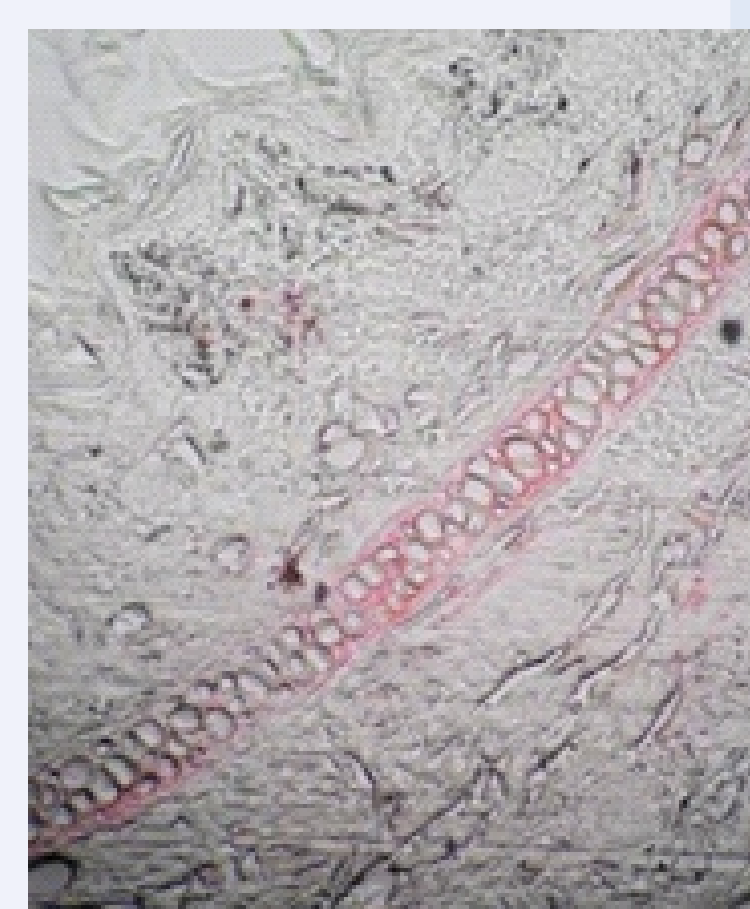


Figura 9. Lâmina em Azul da Prússia do animal controle.

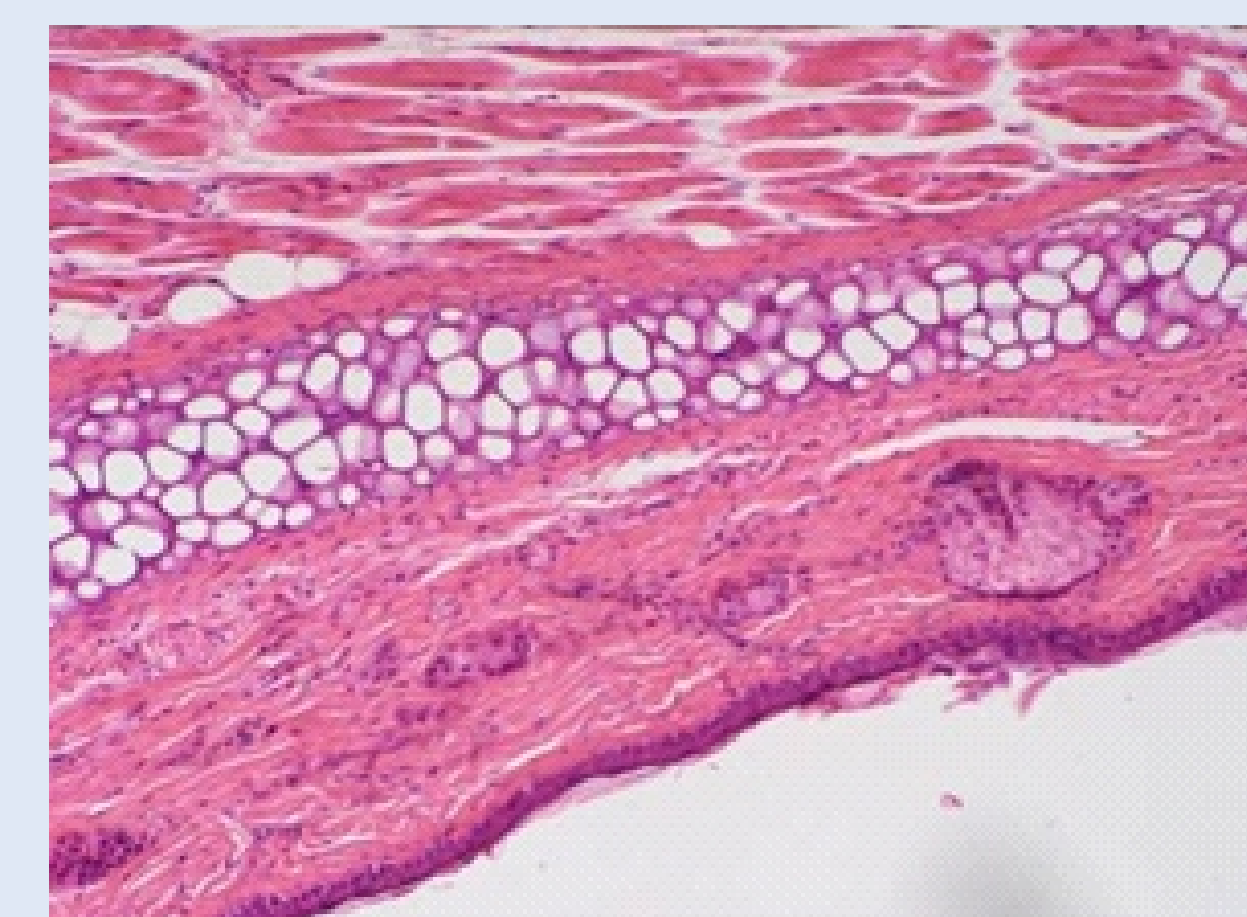


Figura 10. Lâmina em HE dos animais em que foram injetadas AH + CTM.

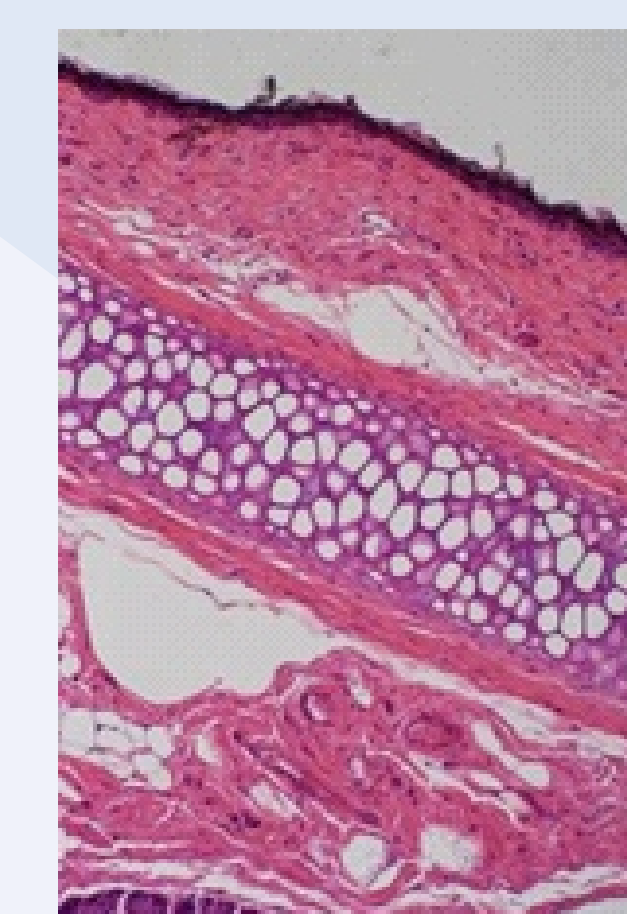


Figura 11. Lâmina em HE do animal controle.

RESULTADOS

Não foram identificadas CTM através das imagens de RNM dos animais injetados, portanto sem diferença em relação ao controle. No estudo imunohistoquímico, não se verificou marcação nuclear positiva para BrDU. Não houve alterações histológicas em comparação ao animal controle.

DISCUSSÃO

Pode ter ocorrido a absorção do ferro além de perda da marcação pelo BrDU e/ou houve eliminação das CTM. As hipóteses podem ser corroboradas tanto pela ausência de imagem na RNM e histologia negativa para ferro na coloração com Azul da Prússia, quanto pela ausência de marcação para BrDU. Houve o viés do prazo da análise ter sido adiada em uma semana da proposta inicial.

CONCLUSÃO

Após cinco semanas, a RNM e o BrDU, não demonstraram eficiência na detecção de CTM marcadas. Novos trabalhos devem ser realizados para determinar a influência do tempo de permanência das CTM nos animais. Novos marcadores mais específicos devem ser testados e estabelecidos os tempos ótimos para análise. A publicação de trabalhos com resultados negativos deve ser estimulada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angell M. Negative Studies, N. Engl. J. Med., v. 321, p. 464-466, ago. 1989.
Fu X., Han B., Cai S. et al. Migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells induced by tumor necrosis factor-alpha and its possible role in wound healing. Wound Repair Regen., v. 17, n. 2, p. 185-91, mar.-abr. 2009.
Pasquinelli G., Orrico C., Foroni L. et al. Mesenchymal stem cell interaction with a non-woven hyaluronan-based scaffold suitable for tissue repair. J. Anat., v. 213, n. 5., p. 520-30, nov. 2008.
Stosich MS, Mao JJ. Adipose tissue engineering from human adult stem cells: clinical implications in plastic and reconstructive surgery. Plast. Reconstr. Surg., v. 119, n. 1, p. 71-83, jan. 2007.