

## CARACTERIZAÇÃO DE PRECURSORAS NEURONAIS DERIVADAS DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DO TECIDO ADIPOSE

Nathalia Barth de Oliveira

nathybarth03@gmail.com

Dra. Ana Carolina Irioda

Dra. Katherine Athayde Teixeira de Carvalho

**RESUMO: Introdução:** As células-tronco são células indiferenciadas que possuem autorrenovação e capacidade de se diferenciar em diversas linhagens celulares, por esse motivo têm sido considerado o seu potencial terapêutico. Dentre as mais estudadas estão as células-tronco mesenquimais que podem ser isoladas a partir de qualquer tecido derivados do mesoderma e têm como principais características, elevada plasticidade, a capacidade de originar tecidos mesodermis e não mesodermis, além de proporcionar a modulação da resposta inflamatória e contribuir para a reparação tecidual. O termo mesenquimal é utilizado para se referir a um grupo celular presente somente no embrião em desenvolvimento, derivado principalmente do mesoderma, que dá origem as células que constituem o tecido conjuntivo de adultos (PAIM et al., 2018). As células-tronco diferenciadas em precursoras neuronais se mostram promissoras no tratamento de doenças neurodegenerativas. Contudo, sua aplicação em tratamentos clínicos requer uma melhor compreensão sobre os mecanismos responsáveis pela diferenciação, além de suas caracterizações imunofenotípica e genotípica efetivas. A capacidade de diferenciação das células-tronco mesenquimais em precursoras neuronais passa pela formação prévia de neuroesferas. No que tange ao substrato do cultivo celular, foi demonstrado que a rigidez e elasticidade da matriz, onde as células são cultivadas, podem influenciar a orientação, seja o destino de células-tronco pluripotentes. Essas células cultivadas em microambientes com elasticidade comparável ao o cérebro humano, são capazes de se diferenciar eficientemente em linhagens neuronais sem a adição de fatores de crescimento neurogênicos. Esse mecanismo de diferenciação está intimamente relacionado com a proteína YAP (Yes-associated protein), que pode mediar as respostas à rigidez do substrato em células-tronco mesenquimais. Quando essas células são cultivadas em superfícies rígidas, como poliestireno ou vidro, sendo que a YAP está localizada no interior do núcleo e as células se autorrenovam. O oposto ocorre, quando as células-tronco mesenquimais são cultivadas em substratos flexíveis ou com moléculas pequenas inibidoras da polimerização da F-actina, o YAP transloca para fora do núcleo e as células se diferenciam em linhagens neuronais. A YAP auxilia na manutenção da pluripotencialidade das células-tronco de mamíferos, além de promover a autorrenovação de células-tronco neuronais e sua localização durante a diferenciação neuronal é regulada pela proteína angiomotina (AMOT) (ZALTSMAN., et al, 2019). Com relação à AMOT, em substratos flexíveis ocorre o aumento da sua fosforilação promovendo sua localização citoplasmática. A AMOT super-expressa exibe a mesma localização citoplasmática e antagoniza a ativação de YAP enquanto promove a neurogênese. Em substratos rígidos, AMOT localiza-se preferencialmente no núcleo e é hipofosforilada, permitindo que YAP suprima a neurogênese (KANG; SCHAFFER; KUMAR, 2020).

**Objetivos:** O objetivo do estudo foi caracterizar as precursoras neuronais diferenciadas a partir das células-tronco mesenquimais do tecido adiposo.

**Métodos:** As células-tronco mesenquimais foram isoladas do tecido adiposo proveniente de cirurgias estéticas, diferenciadas em adipócitos, osteócitos, condrócitos. As células-tronco foram diferenciadas em precursoras neuronais através da formação de neuroesferas após a semeadura das células-tronco mesenquimais sobre matriz de biopolímero de acordo com os protocolos desenvolvidos pelo grupo de pesquisa. A caracterização das células-tronco mesenquimais foi realizada por meio das técnicas de citometria de fluxo, para os marcadores CD13, CD34, CD45, CD73, CD90, CD105, HLA-DR e HLA-ABC; para as células precursoras neuronais foram realizadas as imunocitoquímicas das proteínas Nestina e  $\beta$ -tubulina III, YAP e AMOT e RT-PCR para os genes NEFM e TUBB3.

**Resultados:** Os resultados demonstraram que as células-tronco mesenquimais se diferenciaram em osteócitos, condrócitos e adipócitos e expressaram os marcadores característicos na citometria de fluxo. As precursoras neuronais expressaram as proteínas Nestina e  $\beta$ -tubulina III na imunocitoquímica e os genes NEFM e TUBB3 na RT-PCR. Com relação as proteínas YAP e AMOT, foi possível observar a translocação da proteína YAP em resposta a regulação da AMOT para fora do núcleo das células comprovando a neurodiferenciação.

**Conclusão:** As células-tronco mesenquimais quando semeadas na matriz de biopolímero foram capazes de se diferenciar em precursoras neuronais, pois expressaram os marcadores característicos de células de linhagens neuronais, comprovado através do mecanismo de translocação da proteína YAP regulada pela proteína AMOT, na ausência de meios de indução e/ou transfecções gênicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** célula-tronco mesenquimal, precursora neuronal, tecido adiposo.

#### **REFERÊNCIAS:**

KANG, P.H; SCHAFFER, D.V; KUMAR, S. Angiotensin links ROCK and YAP signaling in mechanosensitive differentiation of neural stem cells. **Molecular Biology Of The Cell**. v. 5, n. 35, p. 386-396, 1 mar. 2020.

PAIM, Á. et al. Relevant biological processes for tissue development with stem cells and their mechanistic modeling: A review. **Mathematical Biosciences**, 2018.

ZALTSMAN, Y. et al. Angiotensin Regulates YAP Localization during Neural Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells. **Stem Cell Reports**. v. 12, n. 5, p. 869-877, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.03.009>.