

DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO HUMANO EM PRECURSORAS NEURONAIS POR MECANOTRANSDUÇÃO

Nathalia Barth de Oliveira
nathybarth03@gmail.com
Ana Carolina Irioda
Priscila Elias Ferreira Stricker
Bassam Felipe Mogharbel
Nádia Nascimento da Rosa
Dilcele Silva Moreira Dziedzic
Katherine Athayde Teixeira de Carvalho

RESUMO: Introdução: As células-tronco mesenquimais (CTM) são uma população de células-tronco adultas que podem ser isoladas a partir de qualquer tecido vascularizado, possuem alta plasticidade e secretam citocinas e fatores de crescimento que proporcionam modulação da resposta inflamatória e reparo tecidual, contribuindo para a homeostase do organismo (BACAKOVA et al., 2018; HAN et al., 2019). Embora existam várias fontes de CTMs, a quantidade de tecido coletado é limitada e o rendimento celular é baixo. As células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo (CTMTAs) apresentam um excelente rendimento de isolamento, taxa de crescimento linear, ampla capacidade de diferenciação, podendo se diferenciar até mesmo em linhagens neuronais por meio de fatores epigenéticos que são regulados pela interação entre a matriz extracelular (MEC) e as células (CARDOZO, 2020; HUANG et al., 2010). Por esse motivo, vários biomateriais vêm sendo utilizados como MEC artificial e, *in vitro*, essas matrizes desempenham um papel na regulação da diferenciação de células-tronco sendo, portanto, uma abordagem promissora para terapias regenerativas (LEE et al., 2019; ZHANG et al., 2021). Exemplificando, células cultivadas em matrizes artificiais com elasticidade comparável ao cérebro humano podem se diferenciar em linhagens neuronais, sem a adição de fatores de crescimento neurogênicos. Este mecanismo de diferenciação está relacionado à *yes-associated protein* (YAP) e angiomotina (AMOT) que podem mediar as respostas à rigidez do substrato em CTMs durante a diferenciação em linhagens neuronais (KANG; SCHAFFER; KUMAR, 2020; ZALTSMAN et al., 2019). A capacidade de diferenciação das CTMTAs em precursoras neuronais e a possível aplicação dessas células em doenças neurodegenerativas torna necessário o desenvolvimento de estudos básicos que demonstrem o fenótipo e o genótipo dessas células, assim como os mecanismos por trás da sua diferenciação neuronal, para garantir uma utilização segura e eficaz na medicina regenerativa. **Objetivo:** caracterizar precursoras neuronais derivadas de CTMTAs cultivadas em uma matriz de biopolímero natural. **Métodos:** Esse trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa das Faculdades Pequeno Príncipe no dia 30 de novembro de 2018 (nº 3.049.033). As CTMs foram isoladas do tecido adiposo por dissociação enzimática, submetidas à diferenciação em três linhagens: osteócitos, adipócitos e condrócitos e caracterizadas por citometria de fluxo com marcadores de superfície celular característicos. Para a diferenciação neuronal, as células foram semeadas em placas de poliestireno revestidas com a membrana NFBX (*natural functional biopolymer matrix*) e, após a diferenciação, foram caracterizadas por imunocitoquímica e RT-PCR. **Resultados:** Os resultados demonstraram que as células isoladas cumpriram os critérios mínimos estabelecidos pela Sociedade Internacional de Terapia Celular para a caracterização de CTMs. Em 15-25 dias, as células semeadas

na membrana NFBX foram capazes de formar neuroesferas (aglomerados de precursoras neuronais), após a migração das precursoras neuronais foi realizada a sua caracterização e foi possível observar que as células apresentaram expressão positiva das proteínas neuronais nestina, β Tubulina-III, GFAP e NeuN e, também de genes neuronais. Além disso, a imunocitoquímica das proteínas YAP e AMOT revelou que as células cultivadas na membrana NFBX apresentavam marcação citoplasmática dessas proteínas, enquanto que as células cultivadas em placas de poliestireno mantiveram uma marcação nuclear. Quando as proteínas YAP e AMOT estão localizadas dentro do núcleo elas são responsáveis por regular a expressão gênica para manter a autorrenovação das células e suprimir a neurogênese pela inibição da β -catenina. Porém, quando estão localizadas no citoplasma estimulam a neurogênese através da atividade da β -catenina. **Conclusão:** Este estudo demonstrou que as CTMTAs foram capazes de se diferenciar em células com características fenotípicas e genotípicas neuronais por meio do cultivo na membrana NFBX, sem a adição de fatores de crescimento neurogênicos ou transfecção gênica. Essa diferenciação neuronal está relacionada a fatores epigenéticos ou, mais especificamente, à capacidade de mecanotransdução das células regulada pelas proteínas YAP e AMOT.

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

REFERÊNCIAS:

BACAKOVA, L. et al. Stem cells: their source, potency and use in regenerative therapies with focus on adipose-derived stem cells - a review. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 4, p. 1111–1126, ago. 2018.

CARDOZO, C. P. Mechanotransduction: Overview. In: ZAIDI, M. (Ed.). **Encyclopedia of Bone Biology**. Oxford: Academic Press, 2020. p. 217.

HAN, Y. et al. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. **Cells**, v. 8, n. 8, 13 ago. 2019.

HUANG, S.-C. et al. Mechanical strain modulates age-related changes in the proliferation and differentiation of mouse adipose-derived stromal cells. **BMC cell biology**, v. 11, p. 18, 10 mar. 2010.

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. 31, n. 5, p. 386–396, 1 mar. 2020.

LEE, S. et al. Hydrogels with enhanced protein conjugation efficiency reveal stiffness-induced YAP localization in stem cells depends on biochemical cues. **Biomaterials**, v. 202, p. 26–34, 1 maio 2019.

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, 18 abr. 2019.

ZHANG, M. et al. Controllable ligand spacing stimulates cellular mechanotransduction and promotes stem cell osteogenic differentiation on soft hydrogels. **Biomaterials**, v. 268, p. 120543, 1 jan. 2021.