

Estudo de genes relacionados com o controle do ciclo celular nos processos de diferenciação e senescência celular em células-tronco mesenquimais

Luciana Fraga da Costa^{1,2}, Daniel Rodrigo Marinowicz², Juliano Viana Borges², Denise Cantarelli Machado² (orientador)

¹Faculdade de Biociência, ²Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul- PUCRS

Resumo

Introdução

O envelhecimento biológico pode ser definido como uma série de mudanças cumulativas, progressivas e intrínsecas, funcional e estruturalmente deletérias (ARKING *et al.*, 1996). Ele é um processo multifatorial atribuído a componentes genéticos e ambientais, levando a senescência celular, podendo ocorrer tanto *in vivo* como em *in vitro*. Isto ocorre devido à capacidade limitada de divisões celulares ocasionando um declínio gradual da capacidade de proliferação e funcionalidade das células (CRISTOFALO *et al.*, 1994; EFFROS, 2001; HAYFKICK, 2007; OLSON, 1987; PAZZOLI e STEWART, 2008).

As células-tronco têm como características principais a capacidade de auto-renovação e a diferenciação em múltiplas linhagens celulares, desenvolvendo assim um papel central na formação e na renovação dos tecidos, na regeneração e na homeostasia do organismo, durante o desenvolvimento, no processo de envelhecimento e nas lesões (PISCAGLIA, 2008).

A longevidade das células depende do controle da expressão de vários genes envolvidos na proliferação, no controle do ciclo celular e na diferenciação. A grande diversidade de atividade das células-tronco em diferentes tecidos torna importante a compreensão dos mecanismos reguladores que controlam as suas duas propriedades: a autorenovação e a diferenciação (FUCHS e SEGRE, 2000). .

Metodologia

As células-tronco foram obtidas do volume aspirado excedente da medula óssea de pacientes que participaram de um ensaio clínico após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A medula óssea foi fracionada em um gradiente de densidade

gerado por centrifugação sobre Histopaque. A fração mononuclear foi colocada em cultura com meio DMEM suplementado. A cultura foi mantida em estufa a por 4-5 dias para a adesão das células mesenquimais e cultivadas até a quarta passagem. Para caracterização mesenquimal, as células passarão pela diferenciação mesodérmica e citometria de fluxo. O crescimento celular será monitorado, determinando-se o número de vezes que a população duplica (PD), até ser evidenciado pela parada do ciclo celular. Avaliação da senescência celular será mensurada por meio da beta-galactosidase e será realizada a dosagem da proteína p16 através da técnica de imunocitoquímica. Para análise da expressão gênica das proteínas relacionadas com o ciclo celular, será realizada técnica de qRT-PCR utilizando kits Super-Arrays APHS-020 Human Cell Cycle.

Dessa forma este trabalho visa comparar a expressão de genes relacionados com o controle do ciclo celular na diferenciação e na senescência de células-tronco mesenquimais humanas *in vitro*.

Resultados

Até o momento foram obtidas quatro amostras provenientes de medula-óssea, onde cada uma teve a fração mononuclear separada e colocada em cultivo celular, encontrando-se na etapa de expansão celular para posterior diferenciação celular e avaliação da senescência celular.

Conclusão

Visto que o presente trabalho se encontra em andamento e os procedimentos até então realizados são iniciais, não é possível aferir uma conclusão.

Referências

- ARKING, R., *et al.* Factors contributing to the plasticity of the extended longevity phenotypes of *Drosophila*. **Exp Gerontol.** Vol. 3. Nº 31 (1996), pp. 623-643.
- CRISTOFALO VJ , GERHARD GS , e RJ, P. **Biologia molecular do envelhecimento. In: Clínicos cirúrgicos da América do Norte. Zewman & Rosly J.J. vol. I.** Rio de Janeiro. 1994.
- EFFROS, R. **Handbook of the Biology of Aging.** 2001.
- FUCHS, E., e SEGRE, J. A. Stem cells: a new lease on life. **Cell.** Nº 100 (2000), pp. 143-155.
- HAYFKICK, L. Biological aging is no longer an unsolved problem. **Ann N Y Acad Sci.** Nº 1100 (2007), pp. 1-13.

OLSON, C. B. A review of why and how we age: a defense of multifactorial aging. **Mech Ageing Dev.** N° 41(1987), pp. 1-28.

PAZZOLI, E., e STEWART, S. A. Senescence: the good the bad and the dysfunctional. **Curr Opin Genet Dev.** N° 18 (2008), pp.42-47.

PISCAGLIA, A. C. Stem cells, a two-edged sword: risks and potentials of regenerative medicine. **World J Gastroenterol.** N° 14 (2008), pp. 4273-4279.