



TÉCNICAS DE OBTENÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO ADULTAS RETIRADAS DO TECIDO ADIPOSEO E SUAS APLICAÇÕES CLÍNICAS: UM ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

Marta Maria Dal Molin Fregoneze¹; Jessica Cristina Stefanutto²; Isabele Picada Emanuelli³

RESUMO: As células tronco tem a capacidade de se diferenciar em outros tipos celulares para formar ou regenerar tecidos lesados. Um dos principais problemas da utilização de células tronco adultas (CTAs) nas terapias celulares, é a baixa presença destas células nos tecidos, bem como a dificuldade de obtenção e isolamento. Com base nestas evidências, o objetivo deste projeto será validar uma metodologia para o isolamento de células tronco mesenquimais retirada do tecido adiposo que seja eficaz quanto à quantidade e qualidade celular obtida. Para tanto será realizadas revisões bibliográfica de experimentos quanto a obtenção, isolamento, caracterização e aplicações clínicas das CTMs do tecido adiposo, bem como as perspectivas futuras, já que a obtenção destas células é minimamente invasiva e podem ser retiradas do próprio paciente. Sendo assim, serão apresentados os resultados parciais em painel no mês de outubro, e por fim redigido o artigo final para ser entregue em dezembro.

PALAVRAS-CHAVE: a) Células- tronco mesenquimais; b) tecido adiposo; c) isolamento celular; d) terapia celular

1 INTRODUÇÃO

As células-tronco (CT) são capazes de se diferenciar em outros tipos celulares específicos. De acordo com seu potencial de diferenciação, as células-tronco são classificadas em três tipos: células totipotentes, pluripotentes e multipotentes. A primeira é encontrada até o estágio de mórula, antes da primeira diferenciação celular originando qualquer tipo celular, tanto do feto como dos anexos embrionários; já as CT pluripotentes são encontradas na massa celular interna (embrioblasto) no estágio embrionário de blastocisto tendo o potencial de originar os três folhetos embrionários que formarão todas as células do organismo adulto, e por fim as CT multipotentes que têm a capacidade de gerar um número limitado de células especializadas sendo encontradas em pequena quantidade em quase todo o corpo (NERI, 2004).

As CT podem ser encontradas no embrião (CTE) e no tecido adulto (CTAs). As CTAs são conhecidas como células-tronco não embrionárias diferindo entre si por mecanismo de obtenção, manutenção, terapêutica, características biológicas e até mesmo em questões éticas e legais de utilização (NARDI, 2007). A CTE, por ter a

¹ Acadêmica do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROIND). martinha_dalmolin@hotmail.com

² Acadêmica do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR, Maringá – Paraná. jessica_cristinna@hotmail.com

³ Orientadora, Professora Doutora do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Cesumar – UNICESUMAR. isabele@cesumar.br

capacidade de se diferenciar em qualquer tecido e serem ilimitadas, seria a alternativa ideal na reparação de tecidos lesados, porém há o risco de incompatibilidade o que não acontece com CTA que podem ser retiradas do próprio paciente. As CTAs são caracterizadas como células somáticas, presentes em vários tecidos do organismo, como por exemplo, no sangue (hematopoiéticas), cordão umbilical, tecido adiposo, músculo, e talvez em todos. No entanto, estão presentes em pequenas quantidades e são difíceis de proliferar *in vitro*. Algumas são mais ativas do que outras, e são classificadas como células multipotentes que normalmente se restringe a um tecido específico (NERI, 2004; ZAGO; COVAS, 2004).

Por muitos anos, as CTAs mais estudadas, como fonte tanto de células-tronco hematopoiéticas (CTHs), quanto de células-tronco mesenquimais (CTMs), foram as da medula óssea. Como já mencionado, recentemente as CTAs foram encontradas em vários outros tecidos como no tecido adiposo (BYDLOWSKI et al., 2009). Localizado principalmente sob a pele, na camada da hipoderme, o tecido adiposo modela toda a superfície do corpo (ALANIZ, F et al., 2006; YARAK; OKAMOTO, 2010). Ele contém, além dos adipócitos, uma matriz de tecido conjuntivo (fibras colágenas e reticulares), tecido nervoso, células do estroma vascular, nódulos linfáticos, células imunes (leucócitos, macrófagos), fibroblastos e pré-adipócitos (células adiposas indiferenciadas) (KERSHAW; FLIER, 2000). Este último tipo celular é uma das linhagens de maior interesse na atualidade, as quais são obtidas por um procedimento simples e pouco invasivo. No entanto, é necessária a padronização de métodos laboratoriais para isolamento dessas células, das demais células do tecido adiposo, visando uma eficiente utilização em terapias de lesões teciduais (YARAK; OKAMOTO, 2010).

Existem estudos sendo realizados a fim da obtenção das CTMs do tecido adiposo de animais, como no experimento realizado com porcos. Estes animais foram submetidos à cirurgia pouco invasiva para retirada de pequenos blocos de gordura a fim de isolar, caracterizar e gerar um banco de CTMs do tecido adiposo (DARIOLLI, 2011). Outro estudo em humanos foi realizado com CTMs retiradas do tecido adiposo, onde pacientes portadores de ríndes facial tiveram seus sulcos faciais preenchidos com CTM do tecido adiposo (oriundas de aspirado de lipoaspiração). As CT adiposas foram previamente tratadas com ácido hialurônico (fator de crescimento) e o resultado do tratamento foi satisfatório (SILVA et al., 2009). Em humanos, foi obtido amostras de CTMs do tecido adiposo de pacientes que passaram por procedimento de abdominoplastia, onde foi possível isolar e caracterizar as CTs, mediante adição de enzimas digestivas, separação por gradiente de concentração (FYLCOLL) e por citometria de fluxo. As células isoladas foram proliferadas e diferenciadas *in vitro* satisfatoriamente (GAIBA et al., 2012).

Tendo em vista a facilidade de obtenção das CTMs adiposa, o pouco envolvimento ético de sua utilização, e a facilidade de se diferenciarem em vários tipos celulares (conjuntivo, muscular, ósseo, cartilaginosa e vascular), estas células são de grande interesse para a medicina terapêutica, pois não oferecem risco para sua obtenção (DARIOLLI, 2011). Para tanto, é necessário estudos metodológicos para o isolamento deste tipo celular.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste estudo será desenvolvido uma revisão da literatura, procurando extrair as contribuições mais significativas do tema. Para tanto serão utilizados livros, artigos científicos, dissertações e teses que abordem conceitos de

células tronco, protocolos de obtenção de CTMs do tecido adiposo, aplicações clínicas e perspectivas futuras em sua utilização.

As fontes de consulta serão artigos e livros científicos, selecionados através de bases de dados eletrônicas, tais como: Pubmed, Scielo, e bibliotecas do Unicesumar, da UEM, da USP e da UNESP.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo busca na literatura técnicas eficazes no isolamento de células-tronco mesenquimais extraídas do tecido adiposo que tenham qualidade e quantidade suficientes para uma possível terapia médica. Espera-se encontrar na literatura científica protocolos que sejam eficientes e práticos para a obtenção, isolamento e cultivo dessas células.

4 CONCLUSÃO

Espera-se ao término deste projeto protocolar uma metodologia de isolamento celular de células tronco adultas do tecido adiposo para estabelecer o início desta linha de pesquisa no laboratório de Biotecnologia Celular e Reprodutiva localizado na Fazenda da Unicesumar.

REFERÊNCIAS

ALANIZ, M,H,F; TAKADA, J; VALE,M, I,C, A; LIMA, F, B. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. *Arq. Bras. endocrinol. Metab*;50(2):216-229, abr. 2006.

BYDLOWSKI, S.P.; DEBES, A. A.; MASELLI, L. M. F.; JANZ, F.L. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* vol.31 supl.1 São Paulo May 2009 Epub June 05, 2009.

DARIOLLI, R. Caracterização de células tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo de porcos criopreservados e sua responsividade ao Shear stress. 2011. 91 f. Dissertação em nível de mestrado. (programa de ciências médicas) – Universidade de São Paulo.

GAIBA, S.; FRANÇA, L, P.; FRANÇA, J, P.; FERREIRA, L, M. Characterization of human adipose-derived stem cells. 476 - *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 27 (7) 2012.*

KERSHAW, E, E; FLIER,J, S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:327-32

NARDI, N, B. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. *Genética na escola. Volume 2- artigo 5.* 2007. < <http://geneticanaescola.com.br/vol-ii2-artigo-05/>> 18/04/2013.

NERI. D. A Bioética em laboratório: Células-tronco, clonagem e saúde humana. São Paulo: Editora Loyola, 2004. 191p.

SILVA, C. C.; BATISTA, L. S.; CARIAS R. B. V.; NETO, H. C. M.; BOROJEVIC, R. Cultura autóloga de células-tronco mesenquimais de tecido adiposo para o tratamento de ríides faciais. *Rev. Col. Bras. Cir.* 2009; 36(4): 288-291.

YARAK, S.; OKAMOTO, O. K. Células-tronco derivadas de tecido adiposo humano: desafios atuais e perspectivas clínicas. **An Bras Dermatol.** 2010; 85(5):647-56.

ZAGO, M, A.; COVAS, D, T. Pesquisa com células tronco: aspectos científicos, éticos e sociais. Seminário: Instituto Fernando Henrique Cardoso. São Paulo, 30 de Novembro de 2004. 20p.