

29269**DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSEO DE CAMUNDONGOS GFP+**

Rosana Martins dos Santos, Alessandra Bileski Magrisso, Paula Barros Terraciano, Letícia da Silveira Gross.

Orientador: Elizabeth Obino Cirne Lima**Unidade/Serviço:** Centro de Pesquisa Experimental

As células-tronco são células indiferenciadas, com capacidade de auto renovação e diferenciação em diversos tipos celulares. Desta forma, acredita-se que estas células possuem o papel regenerativo em lesões teciduais. São classificadas de acordo com sua plasticidade (totipotentes, pluripotentes ou multipotentes) e origem (embrionárias ou adultas), e são responsáveis pela manutenção da integridade dos tecidos adultos e pela remodelação de tecidos e órgãos. As células-tronco adultas são obtidas a partir de tecidos especializados e podem ser isoladas do tecido adiposo, placenta, medula óssea entre outros tecidos. As células-troncos adiposo derivadas (ADSC) são células progenitoras, de fácil obtenção e expansão in vitro, sendo capazes de se diferenciar em diversos tipos celulares incluindo linhagens osteogênicas, adipogênicas e condrogênicas. O objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar as ADSC de camundongos da linhagem C57BL/6, que expressam a proteína green fluorescent protein (GFP), para posterior rastreamento das células nos animais receptores. O projeto foi aprovado pela CEUA/HCPA sob número 11-0195. Para o isolamento das células foram utilizados cinco animais como doadores, seguindo o protocolo de isolamento. Os animais tiveram morte induzida em câmara de CO₂ e a gordura gonadal foi extraída e processada em capela de fluxo laminar. O tecido foi macerado e incubado em solução de colagenase tipo I por 30 minutos a 37°C. Após a completa digestão tecidual, a enzima foi inativada pela adição de meio DMEM com 10% de soro fetal bovino e o tecido digerido foi centrifugado por 10 minutos a 600g. As células foram plaqueadas em placa de 24 poços, na concentração de 9,5x10³ cél/poço e armazenadas em estufa de CO₂ a 37°C. Após 24 horas, foi adicionado DMEM completo suplementado com fatores que estimulasse as células a se diferenciarem nas linhagens adipogênica, condrogênica e osteogênica. O meio acrescido destes fatores foi trocado duas vezes por semana por 21 dias. Após este período, confirmando a presença de células diferenciadas, estas foram fixadas e coradas. As células isoladas apresentaram morfologia fibroblastóide e capacidade clonogênica. A diferenciação adipogênica foi evidenciada através da presença da coloração de Oil Red O nos vacúolos de gordura das células cultivadas. Já a linhagem condrogênica pôde ser vista através da coloração de Azul de Alcian nos depósitos de glicosaminoglicanos na matriz extracelular. O Vermelho de Alizarina foi utilizado para corar os depósitos de cálcio na cultura, demonstrando que as células também possuem a capacidade de se diferenciar em osteoblastos. **CONCLUSÕES:** As ADSCs derivadas de camundongos GFP+ foram capazes de se diferenciar nos três tipos celulares propostos: adipogênicas, condrogênicas e osteogênicas.