

KETLEN DA SILVEIRA MORAES, FÁTIMA THERESINHA COSTA RODRIGUES GUMA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA – ICBS – UFRGS

INTRODUÇÃO

O Diabetes mellitus (DM) compreende um conjunto de doenças metabólicas caracterizadas por altos níveis de glicose sanguínea, causados pela não produção, produção insuficiente ou falta de resposta à insulina produzida pelas células β -pancreáticas (2). A linhagem celular murina MIN6 assemelha-se qualitativamente e quantitativamente as células β pancreáticas. Esta linhagem apresenta resposta à glicose em baixas passagens (p1 – p40), podendo crescer em monocamada ou tridimensionalmente formando as “pseudo-ilhotas” (PIs) (3). O meio condicionado (MC), é definido como um meio de cultura que esteve em contato com algum tipo celular e/ou tecido durante certo tempo, se caracteriza por conter substâncias produzidas e liberadas que podem então atuar ou ser transferidas para o outro tipo celular quando colocado em contato com as células-alvo. Estudos demonstraram que o MC por células tronco mesenquimais (MSCs) pode modular a reparação de lesões sem a MSCs estarem presentes no local (4).

OBJETIVOS

Avaliar o efeito do meio condicionado por MSCs sobre a proliferação de células MIN6 em monocamadas.

MÉTODOS

1) Meios Condicionados

MSC: Obtidas de tecido adiposo de camundongos, segundo, usadas para obter os meios condicionados (1), conforme esquema abaixo:

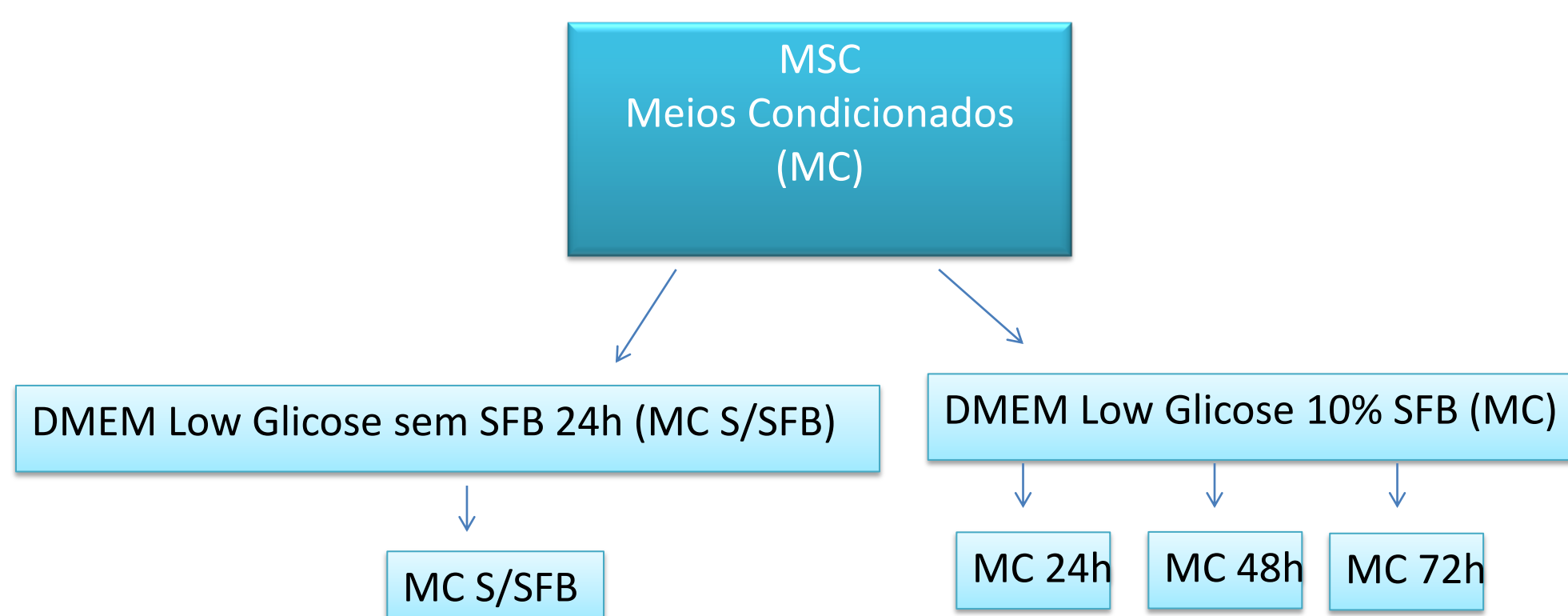


Figura 1: Esquema ilustrativo de obtenção dos meios condicionados a partir de células MSCs.

REFERÊNCIAS

- (1) CRUZ, C. U. Diferenciação das células tronco mesenquimais a partir do meio condicionado da linhagem HepG2. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.
- (2) Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. n. 26, Suppl 1:S5-20, jan 2003.
- (3) HAUGE-EVANS, A.C., et al. Pancreatic beta-cell-to-beta-cell interactions are required for integrated responses to nutrient stimuli: enhanced Ca^{2+} and insulin secretory responses of MIN6 pseudoislets. *Diabetes*, n. 48, p. 1402–1408, 1999.
- (4) ZHANG, L. et al.. Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. *Nat Med* 13, p. 1219–1227, 2007.

2) MIN6: Foram semeadas 1000 células/poço da da linhagem MIN6 e cultivadas por 24, 48 e 72 h com DMEM High (DH) (4,5 g/L de glicose, meio padrão), ou com MC de MSCs, ou com MC de MSCs cultivadas sem soro fetal bovino (SFB), conforme esquema abaixo:

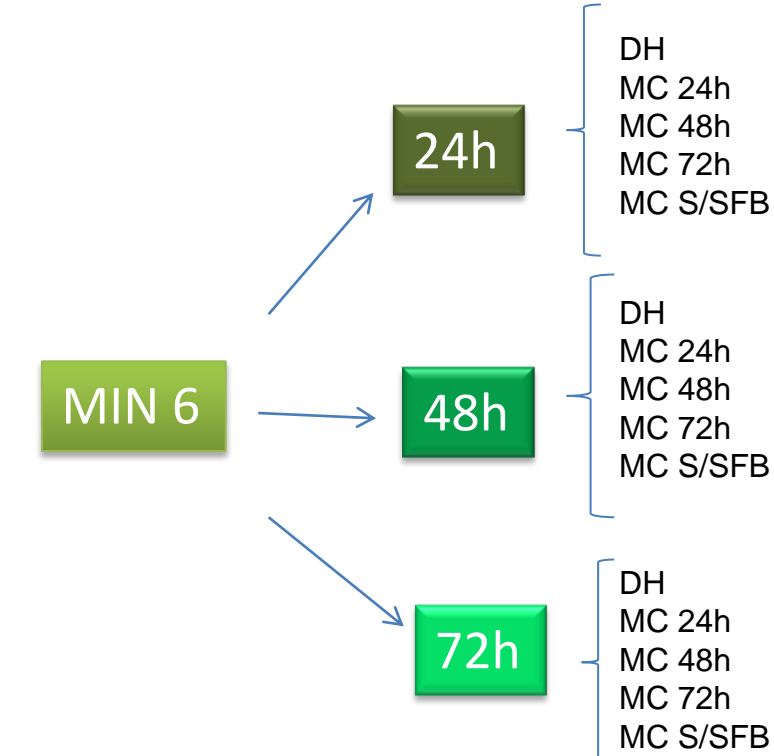


Figura 2. Esquema ilustrativo do tratamento realizado nas células MIN6 com os diferentes meios condicionados e com meio padrão (DMEM High glicose).

RESULTADOS

3) Avaliação do efeito dos diferentes meios sobre a proliferação das células MIN6

O efeito dos diferentes meios sobre a proliferação das células MIN6 foi avaliado pela porcentagem da área ocupada por células na placa de cultura, determinada em um MiniMax 300 Imaging Cytometer acoplado a um Spectra Max i3 Multi-Mode Microplate Detection Platform, no comprimento de onda de 560 nm

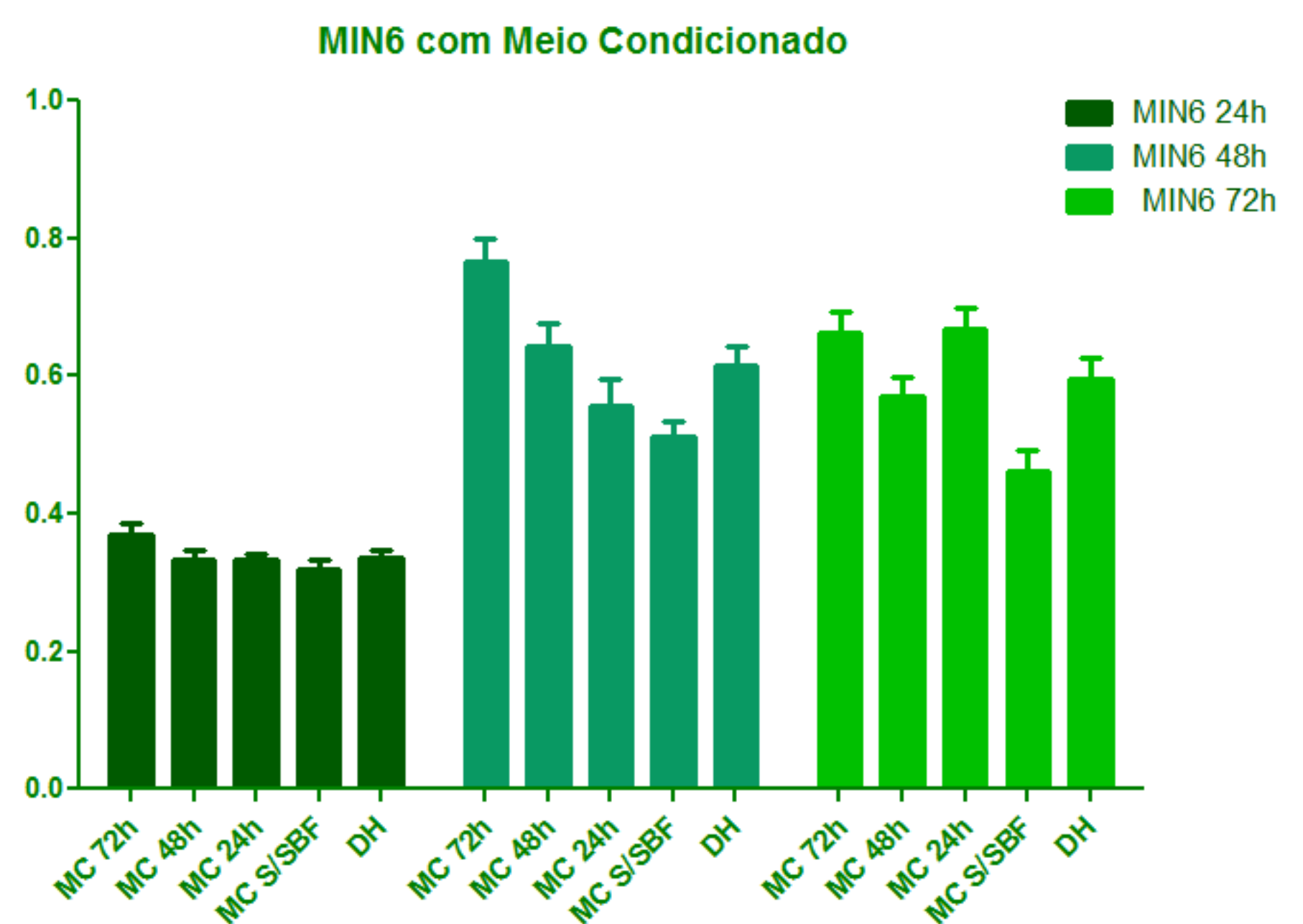


Figura 3: Efeito da incubação com os MC obtidos de células MSC sobre a proliferação de células da linhagem MIN6.

CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Nossos resultados mostram que somente o MC 72h estimula significativamente a proliferação de células MIN6, efeito notado após 24 e 48 h de cultura. Em presença do MC s/SFB a proliferação foi menor que com o meio padrão (DH). Em experimentos futuros pretendemos avaliar se a síntese e secreção de insulina também foi estimulada pelo MC por células tronco mesenquimais.

APOIO: