

Padrão de expressão de citocinas pró-inflamatórias em Células-Tronco Mesenquimais de *Gallus gallus*

Gabrihel S Viegas¹ (IC), Raquel Calloni², Diego Bonatto³

1 Aluno de Iniciação Científica, Ciências Biológicas, UFRGS

2 PPGBCM, Centro de Biotecnologia, UFRGS

3 Centro de Biotecnologia, UFRGS



Introdução

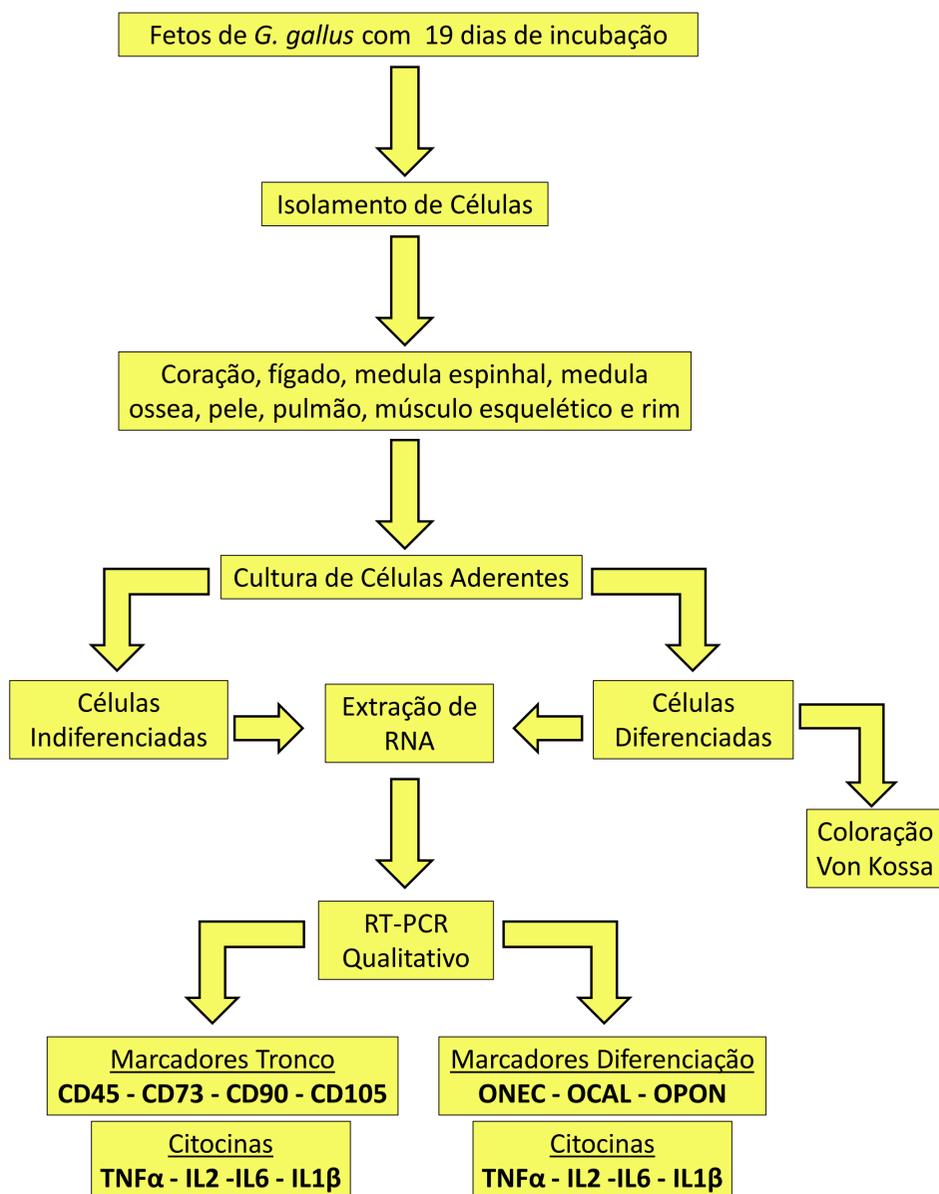
Células-tronco mesenquimais são células plástico-aderentes que possuem a capacidade de auto-renovação e de diferenciação em osteoblastos, adipócitos e condroblastos, possuindo alto potencial de emprego na terapia celular. A utilização do organismo modelo *Gallus gallus* em pesquisas sobre células-tronco apresenta vantagens sobre outros modelos como o curto período de incubação fetal (21 dias), o baixo custo de obtenção e manutenção dos ovos embrionados sob condições de laboratório e o tamanho grande dos fetos, o que facilita sua manipulação e o isolamento de células a partir do mesmo. Pesquisas recentes mostram que células-tronco mesenquimais produzem citocinas pró-inflamatórias e que o contexto inflamatório estaria associado com a diferenciação celular.

Objetivo

Visando elucidar a relação entre inflamação e diferenciação, este trabalho objetiva analisar o padrão de expressão de citocinas pró-inflamatórias por células-tronco mesenquimais de *G. gallus* antes e após a indução à diferenciação osteogênica.

Métodos

Células de diferentes tecidos (coração, fígado, medula espinhal, medula óssea, pele, pulmão, músculo esquelético e rim) foram isoladas de fetos com 19 dias de incubação. A expressão de citocinas (TNF- α , IL-2, IL-6 e IL-1 β), marcadores de superfícies (CD45, CD73, CD90 e CD105) e marcadores de diferenciação (osteonectina, osteocalcina e osteopontina) foram avaliados por RT-PCR qualitativo. Células-tronco mesenquimais foram isoladas de coração e músculo esquelético e induzidas a diferenciação osteogênica por 21 dias.



Resultados

1. Caracterização das células em estado indiferenciado

- Aderência ao plástico;
- Morfologia semelhante à de fibroblasto;

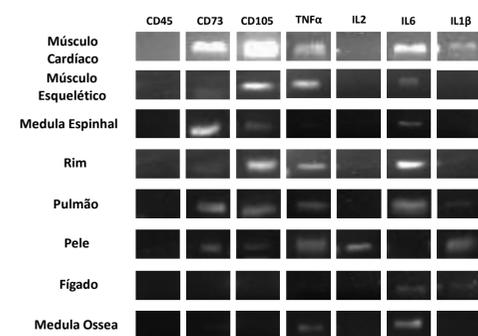


Fig 1. Análise inicial da expressão de citocinas pró-inflamatórias e marcadores de estado tronco de Células-Tronco Fetais de *G. gallus* isoladas de diversos compartimentos.

2. Comparação do perfil de expressão de citocinas pró-inflamatórias antes e após a diferenciação osteogênica

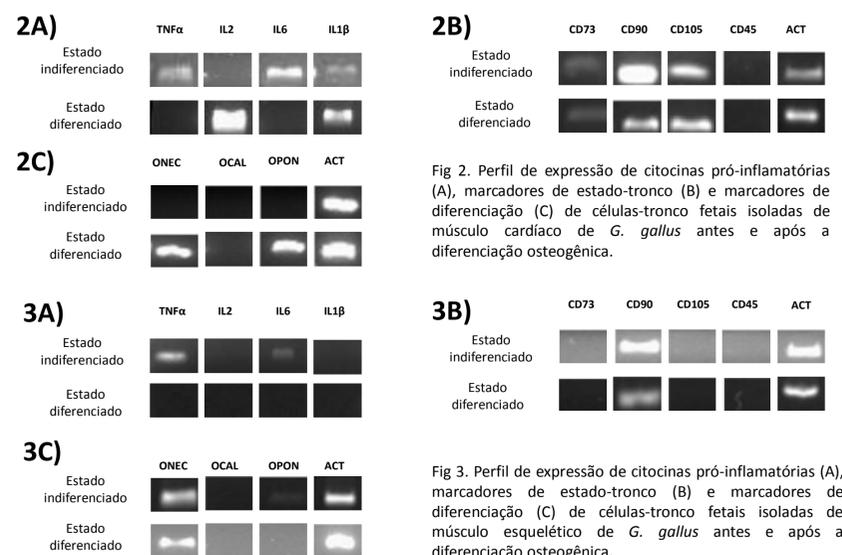


Fig 2. Perfil de expressão de citocinas pró-inflamatórias (A), marcadores de estado-tronco (B) e marcadores de diferenciação (C) de células-tronco fetais isoladas de músculo cardíaco de *G. gallus* antes e após a diferenciação osteogênica.

Fig 3. Perfil de expressão de citocinas pró-inflamatórias (A), marcadores de estado-tronco (B) e marcadores de diferenciação (C) de células-tronco fetais isoladas de músculo esquelético de *G. gallus* antes e após a diferenciação osteogênica.

3. Coloração de Von Kossa

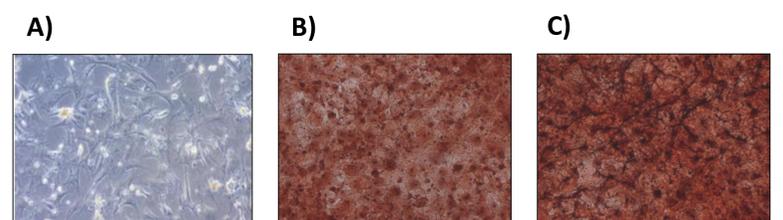


Fig 4. Morfologia de células-tronco fetais isoladas de músculo cardíaco de *G. gallus*. (A) morfologia de células isoladas a partir de músculo cardíaco; (B) células não expostas ao meio osteogênico; (C) células expostas ao meio osteogênico por 21 dias.

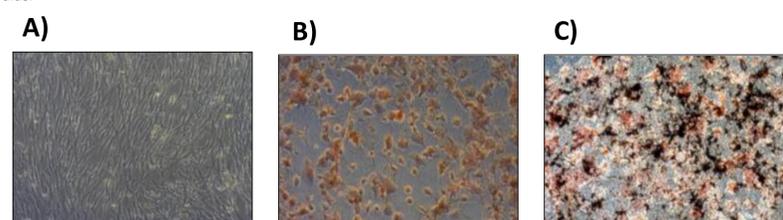


Fig 5. Morfologia de células-tronco fetais isoladas de músculo esquelético de *G. gallus*. (A) Morfologia de células isoladas de músculo esquelético; (B) células não expostas ao meio osteogênico; (C) células expostas ao meio osteogênico por 16 dias.

Conclusões

Conclui-se que possível isolar células-tronco mesenquimais de coração e músculo esquelético de fetos de *G. gallus*. Além disso, as células isoladas desses dois compartimentos apresentam o perfil de marcadores esperado para células-tronco mesenquimais e são capazes de diferenciar-se para osteoblastos. Quanto ao perfil de citocinas, células em estado indiferenciado expressam IL6 e não expressam IL2 exceto no caso de células isoladas de pele. Por fim, a expressão de citocinas pró-inflamatórias altera-se após a diferenciação osteogênica de células-tronco fetais de *G. gallus* isoladas de coração e músculo esquelético.