

# Avaliação da Eficiência do Resveratrol na Reprogramação Celular Utilizando Células-Tronco Mesenquimais Murinas



Rodolfo Toscan<sup>1</sup> e Guido Lenz<sup>1,2</sup>



1. Laboratório de Sinalização e Plasticidade Celular, Departamento de Biofísica, UFRGS.
2. Centro de Biotecnologia, UFRGS.

## Introdução

As células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) foram produzidas pela primeira vez pelo grupo do doutor Shinya Yamanaka em 2006 a partir da transdução dos fatores de transcrição Oct4, Sox2, c-Myc e Klf4. As iPSCs mostram equivalência às células-tronco embrionárias em características como: potencial de diferenciação *in vitro* e *in vivo*, presença de marcadores enzimáticos e expressão gênica. O resveratrol é um composto antioxidante natural associado à longevidade e já foi testado na indução de iPSCs a partir de fibroblastos. O seu potencial terapêutico vem sendo estudado em muitas áreas como: cardiologia, oncologia e infectologia.

## Objetivo

O objetivo deste trabalho foi a comparação da eficiência de reprogramação celular em diferentes células-tronco mesenquimais (MSCs) tratadas ou não com Resveratrol.

## Materiais e Métodos

Foram utilizadas células-tronco mesenquimais isoladas a partir de pulmão, rim e tecido adiposo de camundongos da linhagem C57Bl/6. Os experimentos realizados foram: transdução com vetores retrovirais codificando OCT4, SOX2, c-MYC e KLF4; Tratamento diário com 3  $\mu$ M de resveratrol, ou sem tratamento; quantificação da atividade da fosfatase alcalina (Alkaline Phosphatase Live Stain (500X) - Life technology) e indução de corpos embriões, como ilustrado na figura 1.

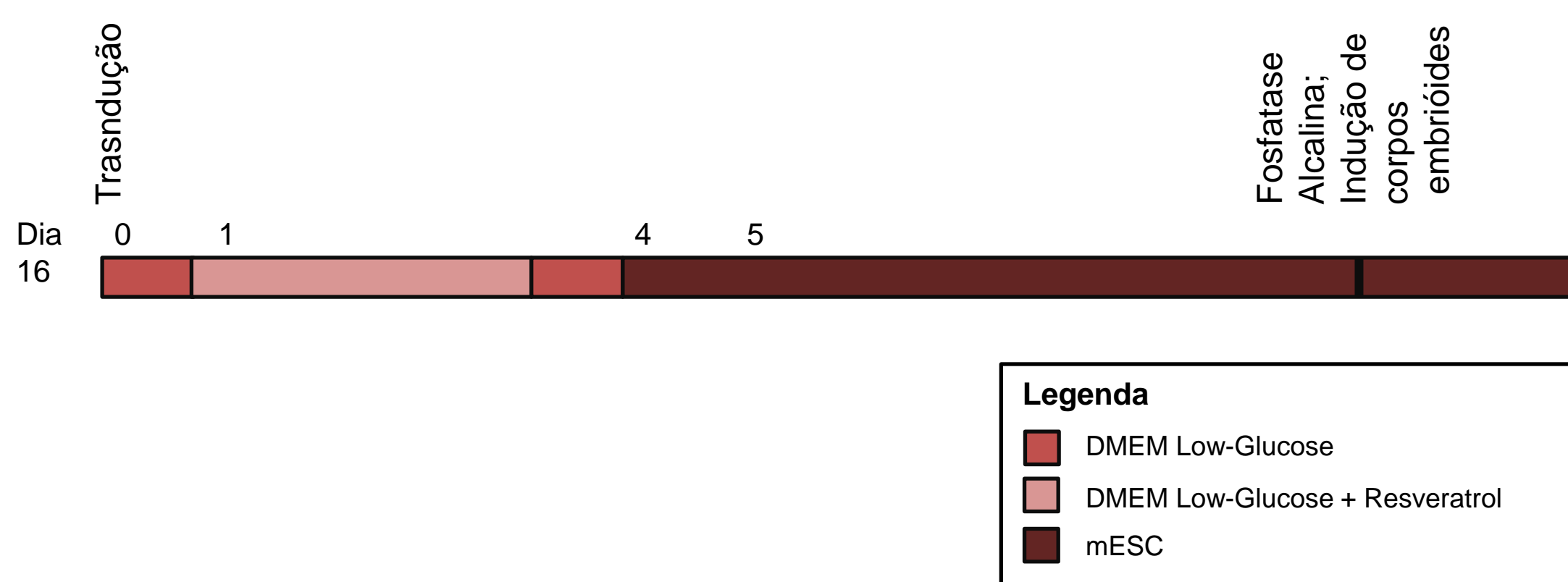


Figura 1. Representação esquemática da metodologia empregada

## Resultados e Discussão

As primeiras alterações foram observadas no dia 13. As MSCs oriunda de pulmão tratadas com Resveratrol apresentaram uma colônia de iPSC (figura 2). As células de tecido adiposo não apresentaram qualquer tipo de modificação durante todo o experimento

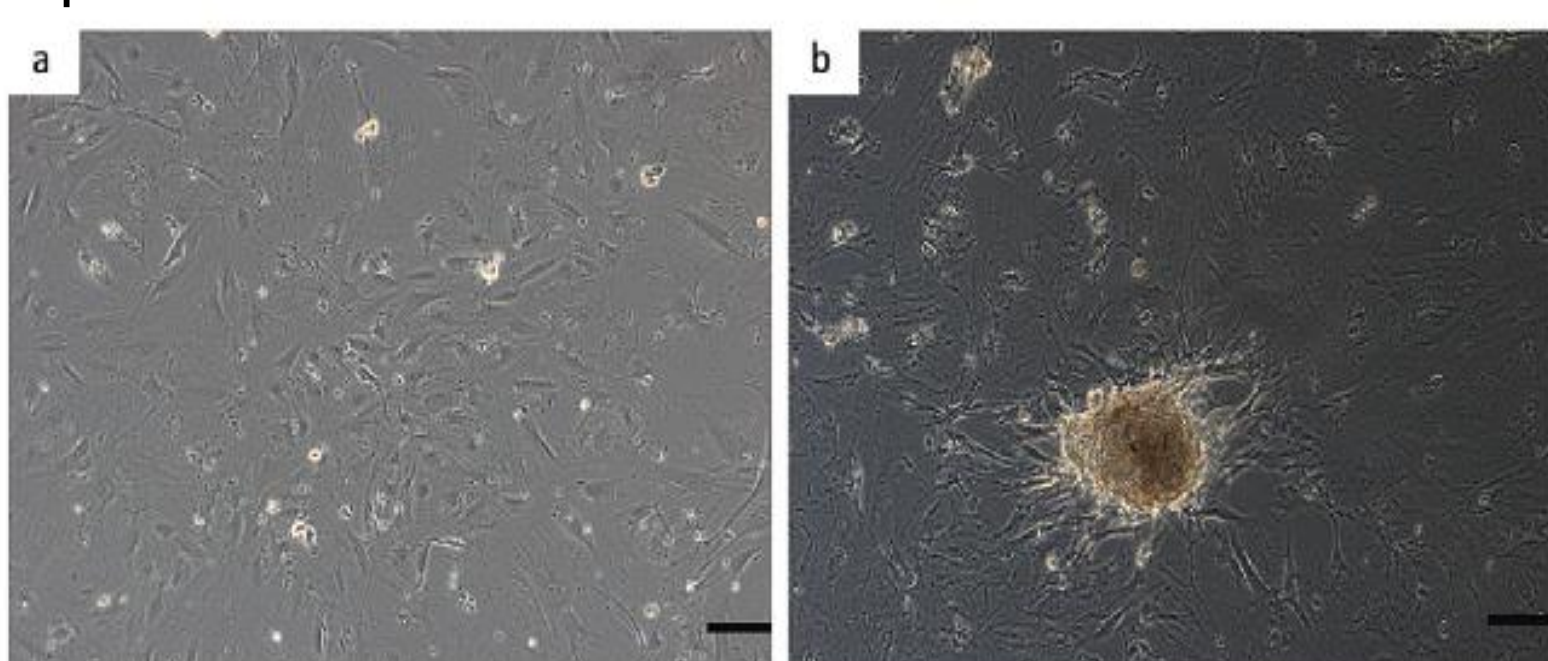


Figura 2. Reprogramação celular de MSC isolada a partir de pulmão. a) Dia 0 b) Dia 14. \*Barra correspondente a 100 $\mu$ m

No dia 15 já era possível visualizar claramente as iPSCs de rim, tratadas ou não com resveratrol (figura 3 e 4).

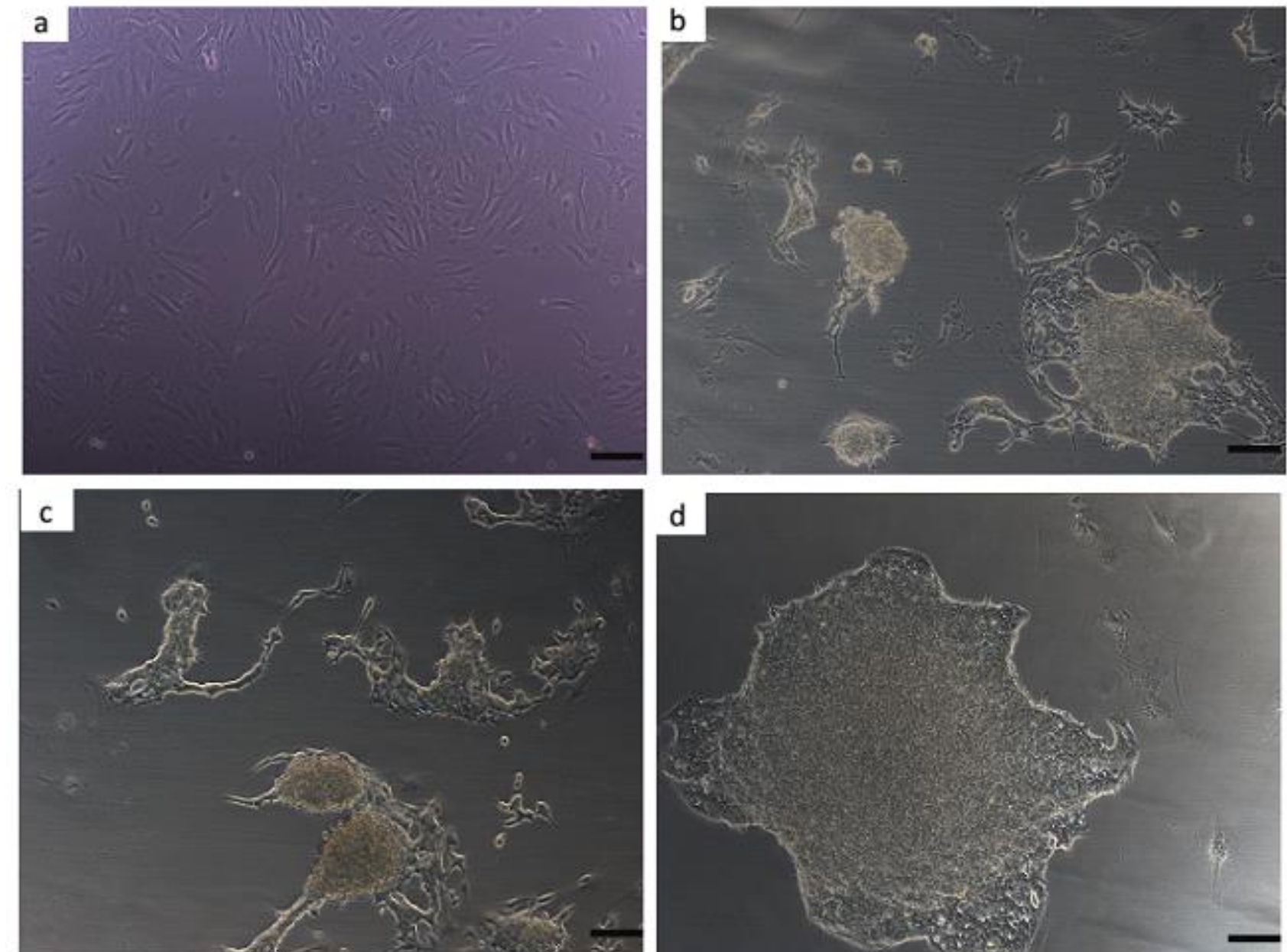


Figura 3. Reprogramação de iPSC a partir de rim tratadas com Resveratrol(3  $\mu$ M). Barra correspondente a 100 $\mu$ m.

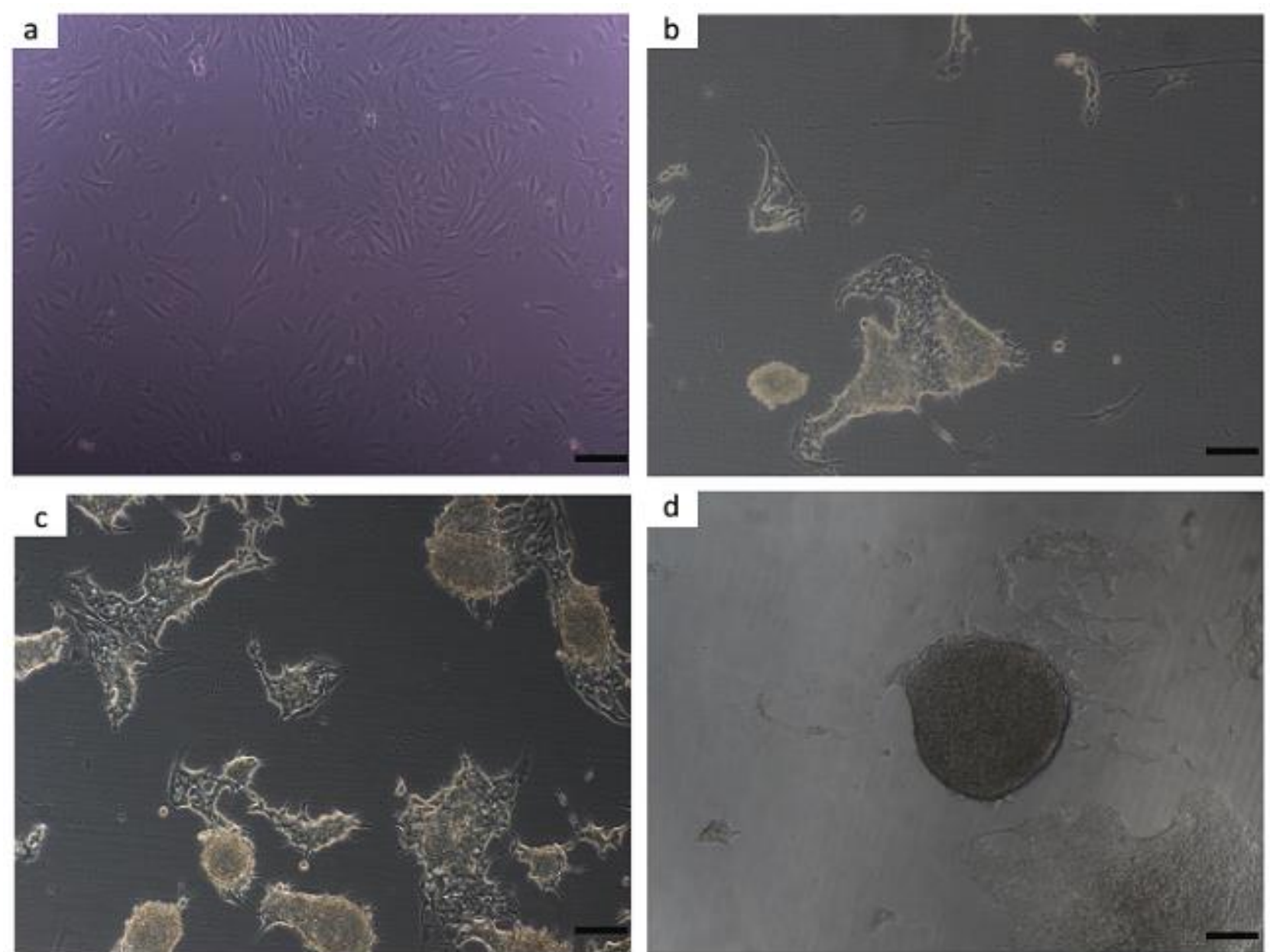


Figura 4. Reprogramação de iPSC a partir de rim sem tratamento com Resveratrol(3  $\mu$ m). Barra correspondente a 100 $\mu$ m.

No dia seguinte essas iPSCs foram testadas quanto a presença de atividade fosfatase alcalina (figura 5a). No mesmo dia, uma fração destas células foi mecanicamente desagregada e semeada em placas de cultivo não aderente, e originou corpos embriões (figura 5b).

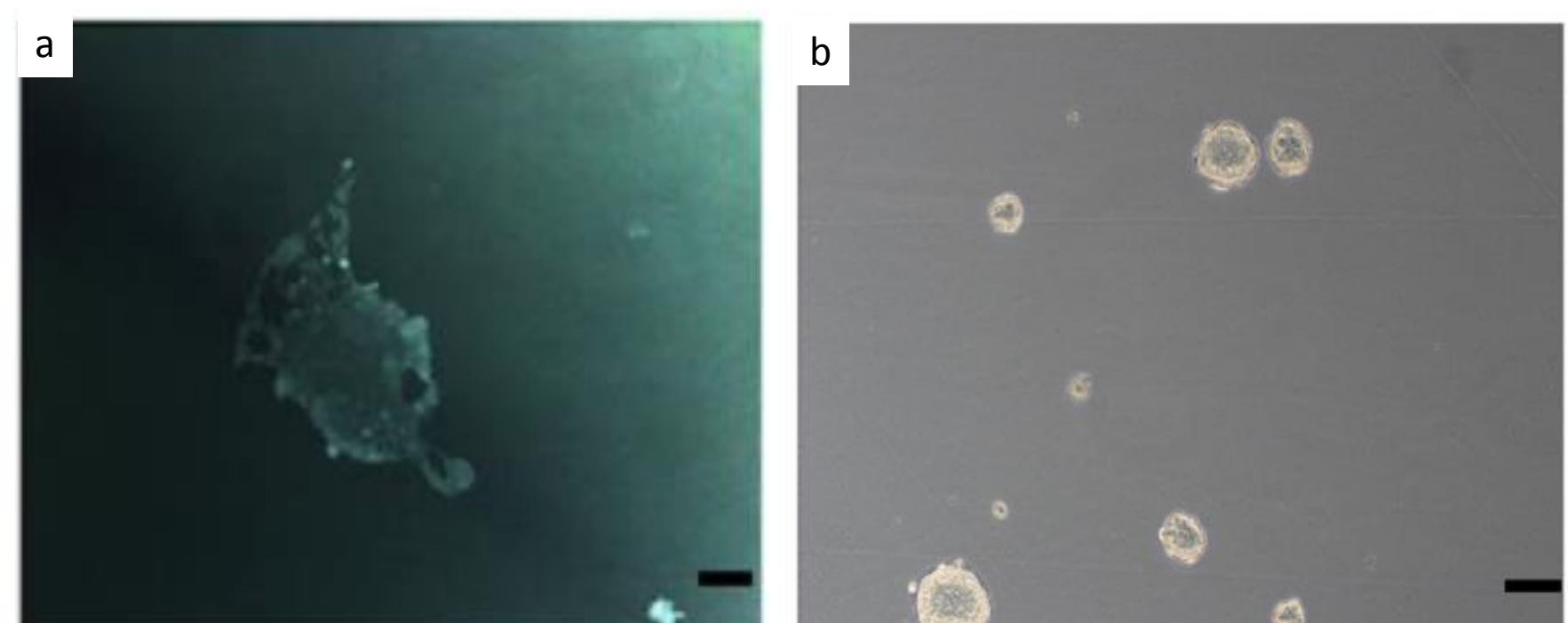


Figura 5. Testes de pluripotência. 5a. Detecção de atividade de Fosfatase Alcalina. 5b. Indução de corpos embriões.

No dia 18, o número total de colônias de iPSC geradas foram contadas: 65 colônias nas células de rim tratadas com Resveratrol e 89 colônias para o respectivo grupo controle, sem este tratamento, 1 colônia nas MSC de pulmão tratadas com Resveratrol; não foram observadas colônias nas demais amostras (tabela 1).

Origem da MSC	Com Resveratrol	Sem Resveratrol
Rim	65	89
Pulmão	1	0
Tecido Adiposo	0	0

Estes resultados preliminares indicam que o tratamento com resveratrol nas condições utilizadas não aumenta a eficiência da reprogramação nas MSCs testadas.