

INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE CÉLULAS COM MARCADORES DE CÉLULAS PERIVASCULARES NO SANGUE PERIFÉRICO APÓS LESÃO INDUZIDA POR EXERCÍCIO FÍSICO

Luiza Furlanetto Fraga, Thailine Avila dos Santos, Daniel Carlos Garlipp, Lindolfo da Silva Meirelles

INTRODUÇÃO

As células estromais mesenquimais (MSCs) têm capacidade de diferenciação em várias linhagens do tipo mesodérmica (encontradas nas paredes dos vasos sanguíneos) e também não mesodérmicos, originando vários tecidos, incluindo osso, cartilagem, tecido adiposo, entre outros [1]. Anteriormente, foi proposto por nosso grupo que as células perivasculares, denominadas pericitos, originam as MSCs, e que esses pericitos passam a um estado ativado e são mobilizados para o sangue durante e após lesão tecidual [2].

METODOLOGIA

Os participantes da pesquisa forneceram uma amostra de 5 mL de sangue periférico, três dias após seção intensa de exercício físico que resultou em lesão muscular. As amostras de sangue foram incubadas com solução de lise de hemácias, e lavadas uma vez com solução salina tamponada com fosfato (PBS). Após essas lavagens, as células foram contadas, e dispensadas em tubos de citometria de fluxo (200.000 células em 100 µL por tubo). Um tubo recebeu o anticorpo de interesse, e outro o controle. Os anticorpos utilizados foram anti-CD271, anti-CD34, anti-CD140b e NG2. As amostras foram incubadas por 30 minutos a 4°C, lavadas com PBS, e ressuspensas em 300 µL de PBS. As amostras foram lidas em um citômetro de fluxo Accuri C6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, o resultado de cinco indivíduos utilizando apenas o anticorpo anti-CD271 conjugado com FITC apontava a grande possibilidade de pericitos originarem as células estromais mesenquimais. Após estes resultados, analisamos a amostra de mais pacientes. Desta vez, utilizamos um tubo de coleta com EDTA ao invés de heparina. Também avaliamos a frequência de células positivas para outros marcadores de pericitos.

Na marcação do anticorpo anti-CD271 conjugado com outro fluorocromo, a proporção de células positivas para o mesmo é similar antes e após a LMIEF. Quando o marcador CD34 foi avaliado, constatou-se a presença de células fracamente positivas com tamanho e granulosidade de monócitos antes da lesão, e células positivas para este marcador não foram detectadas após a lesão. A utilização de anticorpos anti-NG2 e anti-CD140b mostrou que, em essência, não havia células com esses marcadores no sangue após a lesão muscular induzida por exercício físico. (Conforme a Figura 1)

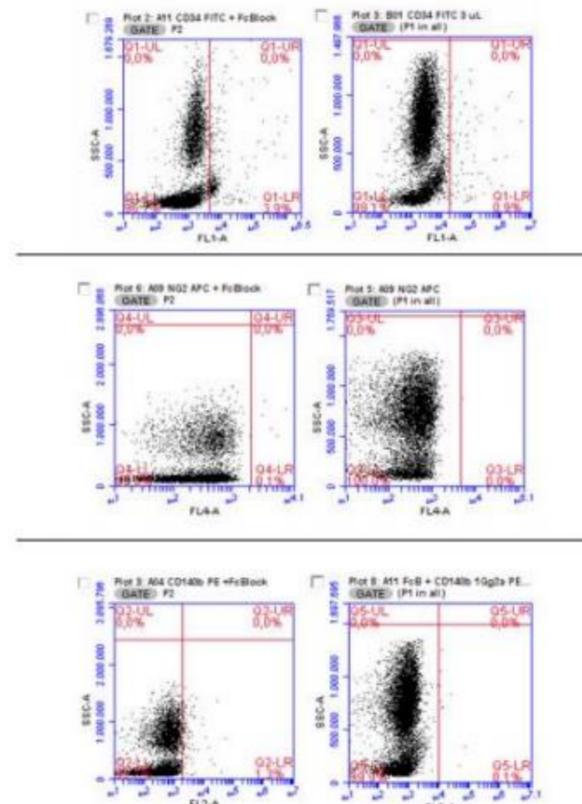


Figura 1: Perfil de expressão de moléculas de superfície de uma amostra de sangue de paciente antes (primeiro quadro) e após (segundo quadro) sofrer a lesão muscular induzida por exercício físico. A primeira linha mostra a expressão de células positivas para CD34, a segunda linha para NG2, e a terceira linha para CD140b.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ausência de células positivas para CD140b, NG2 e CD34 após a lesão, a proporção similar de células CD271+ antes e após LMIEF e a inability de as células do sangue da ampla maioria dos participantes formarem colônias mesenquimais em cultura indica a possibilidade de que as células positivas para CD271 inicialmente detectadas não são pericitos – e é possível que esses eventos positivos correspondam a artefatos experimentais.

REFERÊNCIAS

1. CAPLAN, A.I. Mesenchymal stem cells. J Orthop Res, v. 9, n. 5, p. 641-650, 1991.
2. DA SILVA MEIRELLES, L.; CAPLAN, A.I.; NARDI, N.B. In search of the vivo identity of mesenchymal stem cells. Stem Cells, v. 26, n.9, p. 2287-2299, 2008.