



CULTIVO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS EM MATRIZ TRIDIMENSIONAL DE COLÁGENO: ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS COM EFICÁCIA TERAPÊUTICA

Gisela Garcia Cabral Galaxe de Almeida, Francielle Bonet Ferraz, Jorge Hernandez Fernandez, Arthur Giral-di-Guimarães

As células-tronco mesenquimais de medula óssea (CMMOs) são células-tronco adultas caracterizadas como células clonais, multipotentes, com morfologia de fibroblastos e aderentes ao plástico. Elas são facilmente expandidas em cultura e podem se diferenciar em várias linhagens celulares. Há grande interesse no uso dessas células em terapia celular. O modelo de cultivo convencional em ambiente bidimensional (2D) tem se mostrado limitado, pois é muito diferente do ambiente natural da célula, que é em uma malha formada por proteínas da matriz extracelular que promovem sustentação mecânica e ajudam na organização e comunicação entre as células. O modelo de cultivo em ambiente tridimensional (3D) é uma abordagem mais próxima do observado *in vivo*. Os “suportes” em 3D oferecem à célula interações químicas e mecânicas que devem influenciar em seu comportamento geral como na adesão, migração, proliferação, diferenciação e liberação de fatores. O objetivo desse projeto é comparar a expressão de genes relacionados à adesão e migração entre CMMOs cultivadas apenas em garrafas de plástico (2D) e CMMOs cultivadas em matriz de colágeno (3D). Para isso, CMMOs extraídas do fêmur e da tíbia de ratos da linhagem *Wistar* serão cultivadas em garrafas até a terceira passagem, para que se obtenha um alto nível de purificação da cultura. A cada passagem as CMMOs serão soltas da placa por tripsinização. Após a terceira passagem, as células serão colocadas em poços, em placas de 24 poços, e serão cultivadas (5×10^5 células por poço) em 2D, apenas sendo colocadas no fundo do poço e suplementadas com o meio de cultura, ou em 3D, sendo cultivadas em matriz de gelatina de colágeno I. Após diferentes tempos de cultivo, o RNA total das CMMOs será extraído de cada poço e passará por um processo de depleção ribossomal e enriquecimento de mRNA. A análise de expressão gênica será realizada através do sequenciamento do cDNA sintetizado a partir do mRNA e os genes de interesse serão amplificados por PCR em tempo real, utilizando *primers* específicos. Os genes analisados serão as subunidades de integrinas e as metaloproteinases de matriz extracelular. O projeto encontra-se em fase de desenvolvimento. Espera-se que sejam encontradas diferenças na expressão dos genes estudados entre os dois tipos de cultivo, uma vez que os fatores químicos e mecânicos exercidos por cada um deles são diferentes, e isso deve afetar significativamente o fenótipo das CMMOs.

Palavras-chave: PCR em tempo real, integrinas, metaloproteinases de matriz extracelular.

Instituição de fomento: FAPERJ, PIBIC/UENF.