

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC
**UFRGS**
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	O Papel da Via de Sinalização PI3K na Diferenciação de Células-Tronco Mesenquimais em Células Produtoras de Insulina in Vitro
Autor	NICHOLAS GUERINI SELISTRE
Orientador	CARLOS ALBERTO SARAIVA GONCALVES

O Papel da Via de Sinalização PI3K na Diferenciação de Células-Tronco Mesenquimais em Células Produtoras de Insulina *in Vitro*

Autor: Nicholas Guerini Selistre; **Orientador:** Carlos Alberto Saraiva Gonçalves
Departamento de Bioquímica – Instituto de Ciências Básicas da Saúde – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
CEUA: 30627

As células-tronco mesenquimais (MSC) são consideradas uma linhagem de células-tronco somáticas e estão presentes em tecidos adultos como por exemplo o tecido adiposo. As MSC caracterizam-se por ser uma população de células multipotentes capazes de se diferenciar e produzir qualquer tipo celular necessário num processo de reparação, como osteoblastos, condroblastos, adipócitos, dentre outras, tendo assim também, a capacidade de diferenciação em células produtoras de insulina (CPI). O diabetes mellitus do tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune caracterizada pela destruição de células β pancreáticas produtoras de insulina, graças ao seu potencial terapêutico, as MSCs vem sendo exploradas na prevenção e cura de doenças autoimunes como o DM1. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar um protocolo de diferenciação e caracterização das MSCs adipo-derivadas em células produtoras de insulina (CPIs) *in vitro*.

Para o isolamento das células-tronco mesenquimais a partir do tecido adiposo, utilizou-se ratos Wistar-Kyoto de 60 dias. As culturas foram mantidas até atingirem confluência mínima de 80 %, em estufa umidificada a 37 °C e 5 % de CO₂ na atmosfera. A taxa de repique (passagem) é determinada pela cinética da cultura, todos os experimentos foram realizados na quarta passagem celular. Para a caracterização inicial do isolamento celular foi realizado um ensaio de diferenciação adipogênica e osteogênica das MSCs *in vitro*. O protocolo de diferenciação ocorreu durante 3 dias em DMEM-F12 sem soro (SFB), suplementado com 10 nM de nicotinamida, 10 ng/mL de Activina-A, e 10nM de exendina-4. As MSCs controles são cultivadas em meio completo Low DMEM 10% SFB. Para avaliação da expressão de Insulina após a diferenciação se analisou o conteúdo de insulina por um kit comercial de ELISA e por Imunocitoquímica. Para a avaliação da possível via de sinalização que estaria envolvida na diferenciação celular foi co-incubado o inibidor específico LY294002 10 μ M (inibidor da PI3K) durante o tratamento. O teste estatístico utilizado foi a ANOVA de uma via seguida do pós-teste de tukey com significância $p < 0,05$.

Como resultados se pode observar que o isolamento das MSC do tecido adiposo foi efetivo, e as MSC tem a característica de se aderir ao plástico e foram capazes de se diferenciar a dois tipos celulares, osteoblastos e adipócitos. Durante a diferenciação as CPIs se observou a expressão de insulina tanto por ELISA (≈ 0.2 ng/mL/proteína) quanto por imunocitoquímica, mostrando que a exendina-4 presente foi capaz de diferenciar as MSCs. Já que a exendina-4 é um agonista GLP-1 e pode atuar via sinalização da PI3K, avaliou-se essa via adicionando o inibidor LY294002. Ao adicionar o inibidor LY294002 se observou um efeito *per se* na presença das MSCs controle ($\approx 0,25$ ng/mL/proteína). Quando o mesmo foi adicionado junto a exendina-4 mostrou ter um efeito aditivo, ou seja, dobrou o conteúdo de insulina comparado ao tratamento individual com exendina-4 (0,35ng/mL/proteína).

Então neste estudo mostramos que a exendina-4 foi capaz de diferenciar as MSC em CPIs, e que a via de sinalização da PI3K atua negativamente na diferenciação. Quando houve a inibição da via da PI3K se observou um efeito aditivo na diferenciação, com um aumento maior do conteúdo de insulina quando comparado ao grupo sem inibidor e a célula não diferenciada. Dessa maneira podemos concluir que a via da PI3K se mostrou importante na diferenciação em CPIs.