



## ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DERIVADAS DO TECIDO ADIPOSEO E AVALIAÇÃO DA SUA VIABILIDADE TECIDUAL APÓS CRIOPRESERVAÇÃO

Jeferson Dalmago<sup>1 2</sup> e Edison Capp<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, <sup>2</sup> Hospital de Clínicas de Porto Alegre, HCPA

### INTRODUÇÃO

A transferência de gordura autóloga como preenchimento para a reconstrução de tecidos e órgãos é possível por meio de técnicas cirúrgicas de lipoenxertia, que se consolidaram como grandes aliadas na reconstrução das mamas após procedimentos invasivos. Esses procedimentos seguem um protocolo específico de lipoaspiração, processamento e injeção do tecido na região receptora a partir de locais naturalmente predispostos ao acúmulo do tecido adiposo, como o abdômen e a parte traseira das coxas. As adversidades enfrentadas por essa técnica se encontram na variável taxa de absorção do tecido adiposo na região doadora, que em muitos casos torna necessária a realização de novos procedimentos para o alcance de melhores resultados, e a ausência de um protocolo adequado de criopreservação desse tecido, que obriga a submissão da paciente a novas lipoaspirações para a coleta do material a ser enxertado em cada nova cirurgia de correção.

### OBJETIVOS

Avaliar, por meio do ensaio da atividade enzimática de GPDH (glicerol 3-fosfato desidrogenase), a viabilidade do tecido adiposo fresco e após a criopreservação por 6 meses com a trealose, um agente crioprotetor não tóxico, e padronizar o isolamento, expansão e diferenciação das células-tronco mesenquimais derivadas deste tecido.

### MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras de tecido adiposo foram obtidas por meio de lipoaspiração, segundo a técnica de Coleman, da gordura subcutânea abdominal de 8 pacientes com indicação de reconstrução mamária com emprego de lipoenxertia e o tecido foi centrifugado para a separação em três fases: oleosa, gordurosa e hemática.

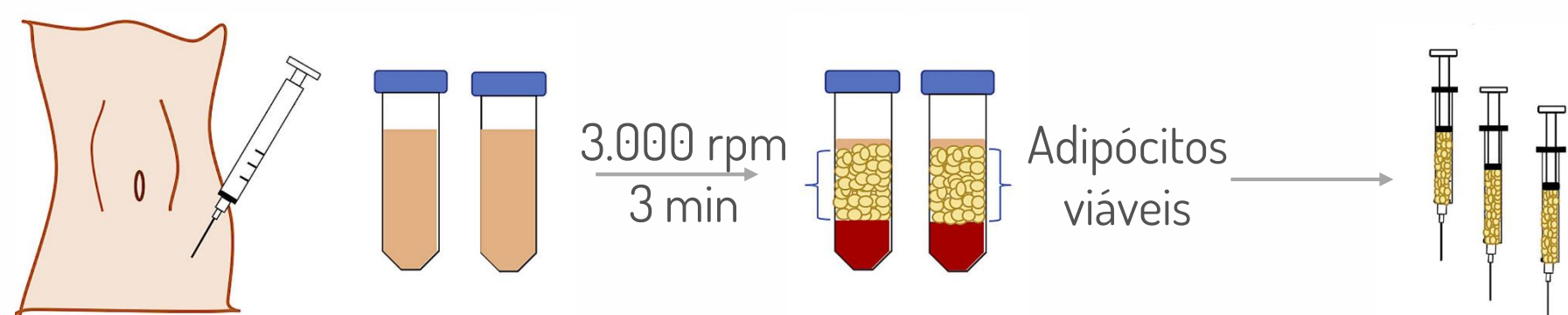


FIGURA 1. Representação do protocolo de coleta e separação por centrifugação do tecido.

Cerca de 30 mL de tecido adiposo de cada paciente foi reservado para estudo e distribuído entre três grupos: tecido adiposo fresco ( $n = 2$ ) ou criopreservado por 6 meses com os agentes crioprotetores DMSO (0,5 M) e Trealose (0,2 M) ( $n = 5$ ) ou apenas com Trealose (0,35 M) ( $n = 6$ ). Após o período de criopreservação, todos os grupos foram avaliados quanto à sua viabilidade por meio do ensaio colorimétrico da atividade de GPDH (Sigma-Aldrich, MAK208) e as células-tronco mesenquimais isoladas da fração hemática e caracterizadas pela indução da sua diferenciação celular. A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS versão 18.0 e One-Way ANOVA com *post hoc* Tukey.

### RESULTADOS

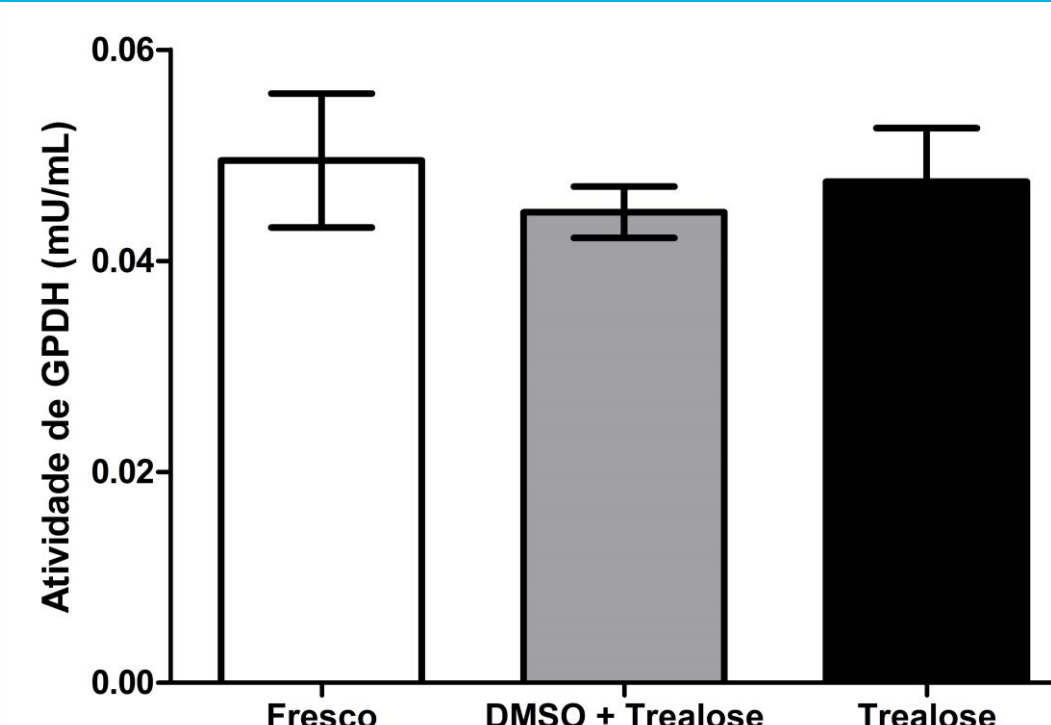


FIGURA 2. Avaliação de viabilidade celular do tecido adiposo por meio da quantificação da atividade de GPDH no tecido fresco ( $0,049 \pm 0,0007$  mU/mL) e no tecido criopreservado por 6 meses com DMSO 0,5 M + trealose 0,2 M ( $0,044 \pm 0,0019$  mU/mL) e apenas com trealose 0,35 M ( $0,047 \pm 0,0048$  mU/mL). Quando comparados entre si, os grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $P 0,257$ ).

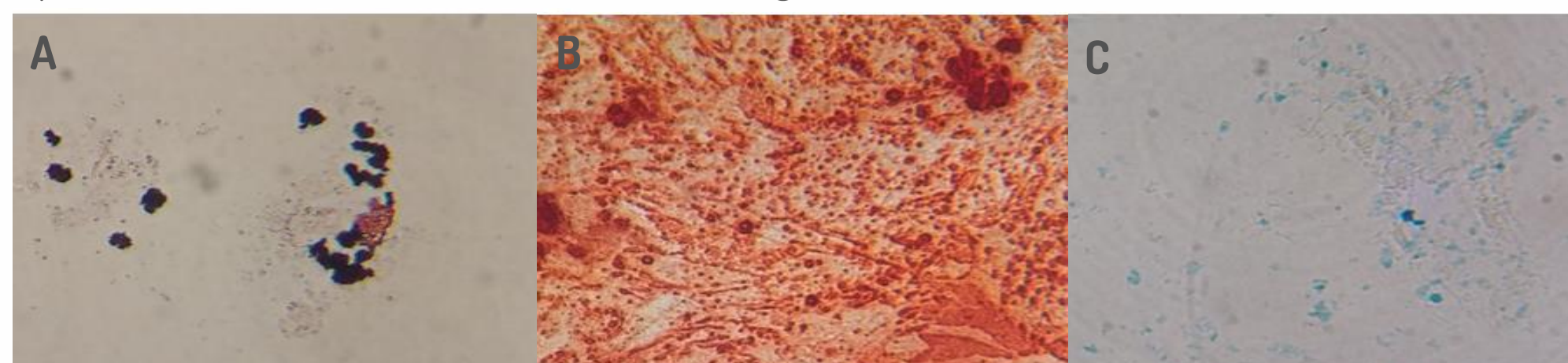


FIGURA 3. Imagens de microscopia das células-tronco mesenquimais diferenciadas em aumento 250x. (A) Vacúolos de gordura de adipócitos após 9 dias de cultivo, (B) depósitos de cálcio na matriz extracelular decorrente da atividade de osteócitos após 21 dias de cultivo e (C) depósitos de proteoglicanos decorrentes da atividade de condrócitos após 21 dias de diferenciação.

### CONCLUSÃO

Por meio destes resultados, concluímos que o efeito protetivo da trealose (0,35 M) mantém a atividade e a viabilidade dos adipócitos após o período de criopreservação e as células-tronco mesenquimais podem ser facilmente extraídas e aplicadas no aperfeiçoamento das técnicas de lipoenxertia para a reconstrução de tecidos e órgãos.