



**Universidade:  
presente!**

**UFRGS**  
PROPEAQ



**XXXI SIC**

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	EFEITOS DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS, PARTÍCULAS DE MEMBRANA E MEIO CONDICIONADO EM MACRÓFAGOS DE CULTURA PRIMÁRIA E DE LINHAGEM
<b>Autor</b>	DIENIFER HERMANN SIRENA
<b>Orientador</b>	ANA HELENA DA ROSA PAZ

## EFEITOS DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS, PARTÍCULAS DE MEMBRANA E MEIO CONDICIONADO EM MACRÓFAGOS DE CULTURA PRIMÁRIA E DE LINHAGEM

Dienifer Hermann Sirena<sup>1</sup> e Ana Helena da Rosa Paz<sup>2</sup>

**Introdução:** As células-estromais mesenquimais (MSCs) são consideradas uma terapia promissora para o tratamento de desordens imunológicas e regeneração tecidual. Acredita-se que induzem a polarização de macrófagos pró-inflamatórios (M1) com morfologia arredondada para um fenótipo anti-inflamatório (M2) caracteristicamente com projeções. Entretanto, há indicativos de que sua utilização pode apresentar riscos devido ao tamanho, ocorrendo aprisionamento nos microcapilares pulmonares. Nesse sentido, desenvolveu-se partículas de membrana a partir de MSCs lisadas visando uma nova estratégia terapêutica. **Objetivos:** Avaliar os efeitos do meio condicionado, das partículas de membrana e das MSCs na polarização de macrófagos primários e de linhagem. **Metodologia:** Foram utilizados, de camundongos C57BL6 machos, macrófagos peritoneais e MSCs do tecido adiposo epididimal, e a linhagem de macrófagos RAW 2647. Após cultura e expansão das MSCs, estas foram estimuladas com LPS, seu meio condicionado foi coletado, as partículas de membrana foram geradas e depois medidas por *Nanoparticle Tracking Analysis*. Os macrófagos, primários e de linhagem, foram co-cultivados por 24 horas em diferentes grupos: MØ (não estimulados); LPS (pró-inflamatório); IL4 (anti-inflamatório); CC (com MSCs); MC (com meio condicionado) e MP (com partículas de membrana), visando verificar sua polarização. A morfologia celular foi avaliada através de microscopia de fluorescência e a área e alongamento celular medidos com o *software ImageJ*. Foi realizado ensaio de interação entre macrófagos e as partículas de MSCs. As culturas foram avaliadas para o marcador de perfil anti-inflamatório de macrófagos CD206 por citometria de fluxo com a utilização do parâmetro MFI (média de intensidade de fluorescência). Ademais, determinou-se a atividade de arginase com análise da concentração de mg ureia/min/mg de proteína em espectrofotômetro. **Resultados e Discussão:** As partículas revelaram tamanho médio de 114nm. Morfologicamente, observou-se maior alongamento com projeções ( $p < 0,05$ ) nos grupos IL4, MC e P de cultura primária, já em RAW 264.7 foram os grupos IL4, MC, CC e P. Entretanto, a área não apresentou diferenças em ambos métodos de cultura. No ensaio de interação observamos a fagocitose das partículas. A expressão de CD206 apresentou os seguintes resultados de MFI: CC=6,195, P=4,582, MC=4,066 e IL-4=4.171, indicando que os efeitos da cultura celular são superiores ao comparar com IL-4, um conhecido indutor do perfil M2. As médias para atividade da arginase correspondem a 183,33 (MØ), 166,67 (LPS), 217,95 (IL-4), 269,03 (MC), 414,28 (CC) e 553,56 (P), o que comprova uma relação altamente positiva na polarização de macrófagos quando há contato entre as membranas celulares, sejam íntegras ou em partículas. **Conclusão:** Foi possível verificar a polarização dos macrófagos e sua alteração morfológica nos diferentes tratamentos. As partículas de membrana de MSC mostraram efeito imunomodulador de macrófagos, fenômeno possivelmente associado a fagocitose. Nesse sentido surge a possível aplicação terapêutica das partículas de MSCs já que estas cumprem o papel de polarização para um perfil M2 e aparentam ser mais seguras do que a terapia celular convencional.

<sup>1</sup> Graduanda em Ciências Biológicas (UFRGS)

<sup>2</sup> Professora Adjunta do Departamento de Ciências Morfológicas - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Centro de Terapia Gênica (CPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.