

SUPEREXPRESSÃO DE BETACELULINA EM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS INDUZ A SECREÇÃO DE INSULINA E REVERTE A HIPERGLICEMIA EM RATOS DIABÉTICOS.



Deutsch KM, Meurer L, Paz AH

INTRODUÇÃO

A diabetes é uma doença causada por deficiência de células beta pancreáticas (β). O atual tratamento com insulina surte efeitos modestos na redução do risco cardiovascular a que os pacientes diabéticos estão expostos. Células-tronco mesenquimais (CTM) são capazes de diferenciarem-se em células especializadas de muitas linhagens. A Betacelulina (BTC), proteína da família dos fatores de crescimento epidermais, está envolvida com o crescimento e diferenciação das células β .

OBJETIVOS

Avaliar o efeito da superexpressão de BTC em células-tronco mesenquimais.

MATERIAIS E MÉTODOS

CTMs isoladas da medula óssea de ratos Wistar foram caracterizadas por citometria de fluxo e diferenciação em adipócitos e osteócitos. Após a caracterização, as CTMs foram transfectadas por eletroporação com um plasmídeo contendo o cDNA da Betacelulina. As células foram selecionadas com G418 e cultivadas com meio DMEM 10% de soro fetal bovino e 10mM nicotinamida. A avaliação da diferenciação foi realizada por radioimunoensaio, imunocitoquímica, RT-PCR para genes específicos de células β e transplante para modelo animal de diabetes induzida por streptozotocina.

RESULTADOS

CTM superexpressando BTC foram positivas para insulina à imunocitoquímica, bem como demonstrou-se, por radioimunoensaio, que liberaram até 0,4ng/mL de insulina. Ao contrário, as CTMs transfectadas com o plasmídeo vazio não produziram níveis detectáveis do hormônio. A análise por RT-PCR revelou a expressão de genes típicos de β nas CTM transfectadas. O transplante de 5×10^6 células sob a cápsula renal de ratos diabéticos reduziu a hiperglicemia de 500 para 200mg/dl.

CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que a superexpressão de betacelulina induz a secreção de insulina in vitro e in vivo em células-tronco mesenquimais. Logo, CTM transfectadas podem ser potencial fonte celular para o transplante e tratamento da diabetes.

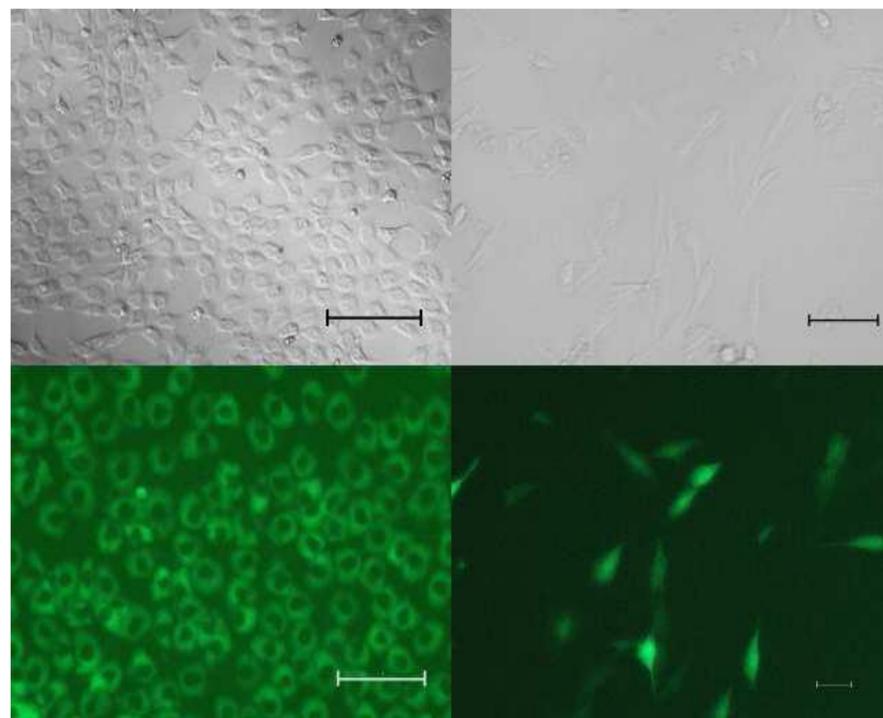


Fig. 1: Células 10 dias após transfecção com plasmídeo contendo BTC (à esquerda) e plasmídeo controle (à direita), observadas em microscopia de contraste de fase (acima) e de fluorescência (abaixo). Note a formação de colônias de diferenciação epitelióide nas células superexpressando BTC em comparação à morfologia fusiforme observada nos controles.

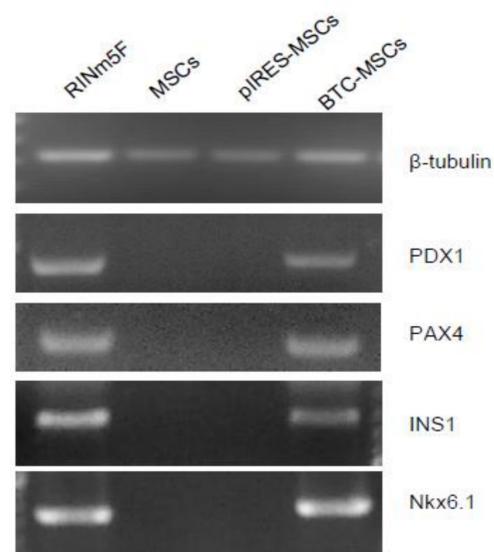


Fig. 2: Análise por RT-PCR de genes tipicamente pancreáticos em células de linhagem de insulinoma (RINm5F), células-tronco mesenquimais indiferenciadas (MSCs), MSCs transfectadas com plasmídeo controle, sem BTC (pIRES-MSCs) e transfectadas com BTC (BTC-MSCs). É evidente a semelhança entre células transfectadas e células com fenótipo diferenciado, naturalmente produtoras de insulina.

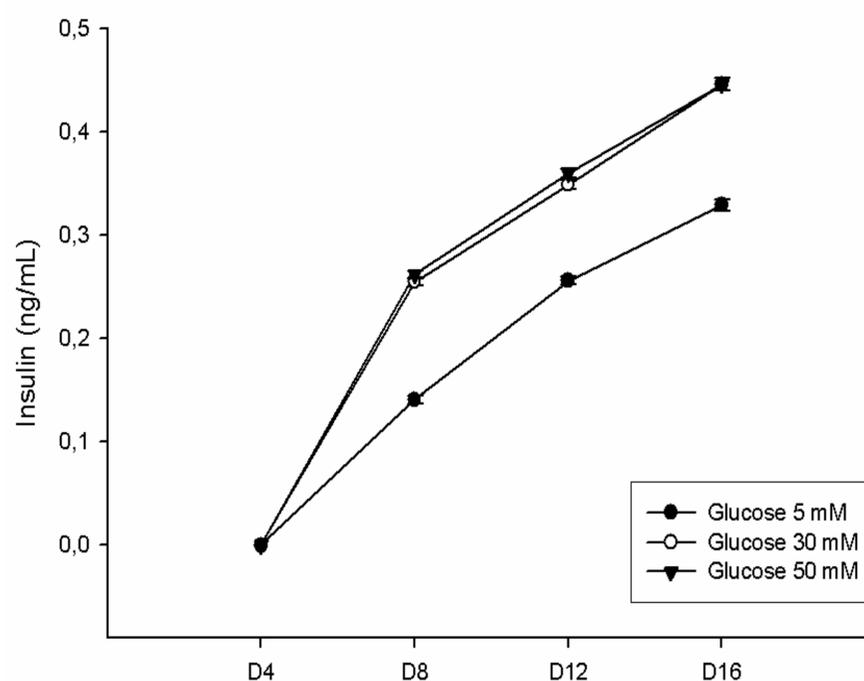


Fig. 3: Resposta das células transfectadas (BTC-MSCs) ao estímulo glicêmico. Cada curva representa uma concentração distinta de glicose no meio de cultura, conforme a legenda, observando-se que a liberação de insulina é potencializada pela glicose nas células transfectadas.