

Tratamento com células-tronco da polpa dentária associado com a recuperação de déficits cognitivos em um modelo de hipóxia-isquemia cerebral neonatal animal

Felipe de Almeida Sassi (a;b), Lauren Valentim (a;b), Lisiane Bernardi (a), Nice Arteni (b), Carlos Alexandre Netto (b) and Patricia Pranke (a; c)

(a) Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia, (b) Laboratório de isquemia cerebral, Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil
(c) Instituto de Pesquisa com Célula-tronco
Correspondência para: Laboratório de Hematologia e Células-tronco, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Ipiranga, 2752, 304g 90610-000 Porto Alegre, RS, Brasil. Telefone: 55 51 3308-5257.
E-mail: fesassi@hotmail.com

Introdução

A encefalopatia hipóxia-isquemia neonatal (EHI) é uma síndrome com danos neurológicos permanentes, cuja causa mais freqüente é a asfixia perinatal grave. Apesar da relevância dessa síndrome, Os tratamentos disponíveis são apenas de suporte, pois não houve avanços na busca de novas curas para essa doença. Nos últimos anos, o potencial da terapia celular para inúmeras doenças, incluindo as neurológicas, tem sido amplamente avaliado, logo, é importante explorar fontes de células-tronco (CT) não-invasivas e de fácil obtenção. Não há evidências consistentes sobre o potencial de regeneração das células-tronco da polpa dentária (DPSCs - dental pulp stem cells) e poucos estudos publicados fazem uso dessa fonte de CT na terapia celular.

Objetivo:

Este trabalho foi realizado para avaliar o tratamento de células-tronco da polpa dentária em um modelo animal de EHI.

Procedimentos experimentais

Neste estudo, Ratos Wistar, 7 dias pós-natal (DPN 7), foram divididos em quatro grupos experimentais: sham-salina (submetidos a procedimento cirúrgico e receberam solução salina via injeção intracardíaca), sham-DPSCs (10⁶ de células-tronco mesenquimais 72h após a operação simulada), HI-salina (hipóxia-isquemia em modelo animal, DPN 7) e HI-DPSCs (tratados com CT). O dano cerebral causado pela EHI neste modelo animal está exemplificado na **Figura 1**. O número de animais por grupo foi de 10-14 e a significância entre os grupos foi considerada para um p<0,05. Para avaliar se DPSCs são eficazes na prevenção de déficits cognitivos ou motores causados pela EHI os ratos foram submetidos aos seguintes testes: *rotarod*, reconhecimento de objetos e labirinto aquático de Morris a partir de 30 dias após a injeção das CT.

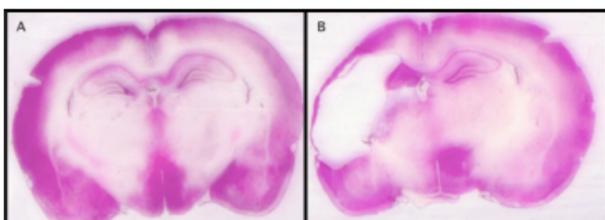


Figura 1: Esta figura representa os hemisférios cerebrais do modelo animal de hipóxia-isquemia e de um animal de controle. (A) Cérebro do rato controle, (B) cérebro de um rato hipóxico-isquêmico.

Resultados

Não houve diferença significativa no teste *rotarod* (**Figura 2**) entre os grupos Sham e HI, o que pode indicar que a lesão não afetou a função motora nos animais. O teste de reconhecimento de objetos mostrou uma diferença significativa entre os grupos experimentais (p <0,05), no qual os ratos hipóxico-isquêmicos (HI) apresentaram uma redução de 50% na exploração de objetos novos em comparação com os grupos Sham (F = 24,3, p = 0,000). O tratamento com DPSCs aumentou a exploração para 56%, comparado com o grupo HI não-tratado (F = 4,3, p = 0,041), como mostrado na **Figura 3**. O teste do labirinto aquático (*Morris water maze* - MWM) mostrou que a HI causa prejuízo na memória espacial (**Figuras 4 e 5**) e o tratamento com DPSCs recupera este déficit no teste final (*probe*), p <0,05, (**Figura 5**).

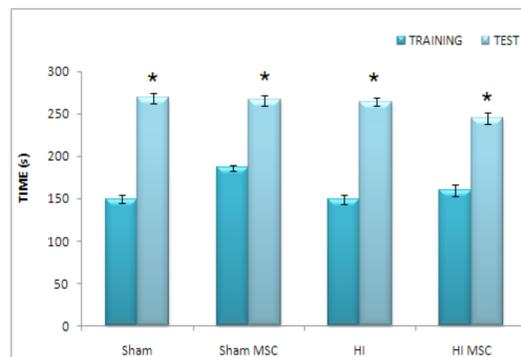


Figura 2: Desempenho dos animais no teste *rotarod*. Cada barra representa a média ± erro padrão (E.P.). Não houve diferença significativa entre os grupos na sessão de teste. Todos os grupos apresentaram comportamento similar de aprendizagem do treinamento para o teste.
* Diferença significativa entre o treinamento e o teste (p <0,05).

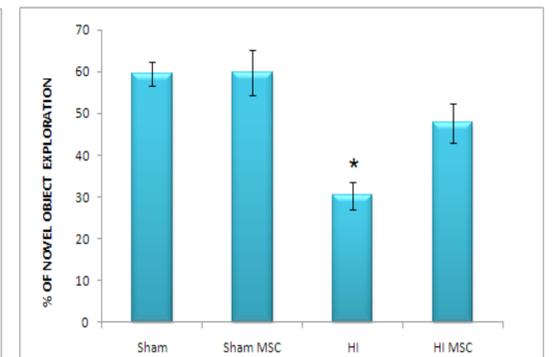


Figura 3: A preferência do objeto novo: o tempo explorando o objeto novo em relação ao tempo total gasto explorando os dois objetos (B * 100 / B + A, onde B é o objeto novo e A é o objeto familiar). Cada barra representa média ± E.P.
* Significativamente diferente de todos os outros grupos (p <0,05).

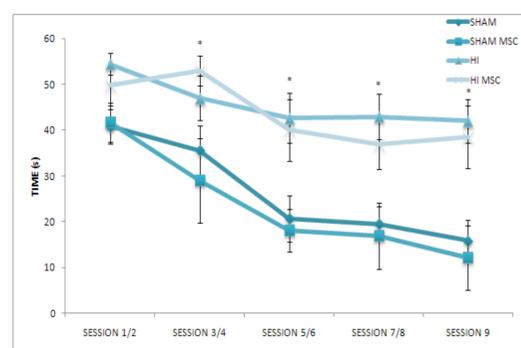


Figura 4: Desempenho dos ratos no teste do labirinto aquático. Cada valor é representado pela média dos quatro ensaios. Cada linha representa média ± E.P.
* O efeito da hipóxia-isquemia. Os grupos HI-salina e HI-DPSCs são significativamente diferentes dos grupos sham (p <0,05).

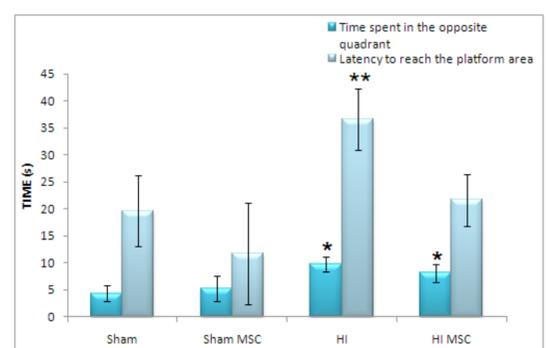


Figura 5: O resultado do teste final (*probe*) do labirinto aquático. Os parâmetros analisados foram o tempo gasto no quadrante oposto e a latência para localizar a área da plataforma. As barras representam média ± E.P.
* O efeito principal da hipóxia-isquemia. Significativamente diferente dos grupos Sham (P <0,05)
** Significativamente diferente de todos os outros grupos (p <0,05)

Conclusões

Os resultados apresentados neste trabalho mostram uma melhora cognitiva em animais HI tratados com DPSCs em duas tarefas de memória. Primeiramente, no teste de reconhecimento de objetos e, por último, no teste do labirinto aquático. Este é um resultado promissor, o qual ainda não havia sido descrito na literatura. Não há, também, trabalhos publicados demonstrando o potencial das DPSCs na recuperação de tecidos neurais lesados. As DPSCs desempenham, portanto, um papel na recuperação cognitiva em modelos animais de EHI, já que está associado com a melhora da memória de grupos HI tratados. A função regenerativa das DPSCs deve ser melhor explorada, logo, mais estudos devem ser conduzidos a fim de empregar as DPSCs na terapia celular.