



O transplante de células tronco mesenquimais derivadas de dente decíduo humano reduz a morte neuronal por apoptose e promove a recuperação funcional de ratos submetidos à lesão medular por contusão

Reichert, L^{1,2,3}, Netto, CA^{1,2}

Departamento de Bioquímica, ICBS¹, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)² Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul³

Introdução: A lesão medular (LM) traumática é uma patologia incapacitante que ainda não apresenta um tratamento eficaz. A perda inicial de células é responsável pelos déficits motores e sensoriais, que ao longo do tempo se agrava em extensa perda de neurônios e glia. Recentemente, o tratamento com células tronco têm se demonstrado eficaz para o tratamento da lesão medular; entre elas, as células-tronco mesenquimais derivadas do dente humano, do inglês “stem cells from human exfoliated deciduous teeth” (SHEDs). Assim, o objetivo deste trabalho é identificar se o transplante de SHEDs previne a morte celular por apoptose em ratos submetidos à lesão medular. **Métodos:** A LM foi realizada por meio do aparelho NYU Impactor. Um total de 72 ratos Wistar foram distribuídos nos grupos Sham ou Naive, LM e SHEDs. As SHEDs foram implantadas no local da lesão 1 hora após a lesão, na concentração de 3×10^5 de células diluídas em $10 \mu\text{L}$ de NaCl à 0,9%. A avaliação da função motora foi realizada por meio da escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB), nos grupos Sham, LM e SHEDs, que gradua a atividade locomotora de 0 (paralisia total) à 21 pontos (locomoção normal). Seis horas e vinte quatro horas após a lesão se coletou amostras da medula espinal dos grupos Naive, LM e SHEDs para as avaliações de morte celular (caspase-3 clivada), bem como a expressão de BCL-XL, utilizando-se a técnica de Western Blot. Os níveis de TNF- α foram analisados pela técnica de ELISA, em 6 e 24 horas.

Resultados: Após o transplante das SHEDs, o teste BBB foi realizado e as diferenças foram evidenciadas a partir da segunda semana em relação ao grupo lesão, se mantendo essa diferença até a sexta semana. A morte celular por apoptose foi significativamente maior no grupo LM quando comparada ao grupo Controle em 6 horas, já o grupo SHEDs não demonstrou essa diferença, mostrando que as SHEDs reduzem a morte celular por apoptose. Em 24 horas nenhuma diferença significativa foi encontrada. Para identificar os níveis de apoptose em neurônios, uma citometria de fluxo com dupla marcação para MAP-2 (neurônios) e Caspase 3 clivada (morte por apoptose) foi realizada. As SHEDs foram capazes de reduzir o número de neurônios em processo de apoptose em 6 horas quando comparado com o grupo LM, que aumenta em comparação ao grupo Controle. Em 24 horas nenhuma diferença é evidenciada. Em 6 horas, o grupo LM aumenta os níveis de TNF- α em relação ao grupo Controle, enquanto que o grupo SHEDs reduz em relação ao grupo LM, mas se mostra aumentado em relação ao grupo Controle. Verificamos que na presença da lesão os níveis de BCL-XL reduz em relação ao grupo Controle 6 horas após a lesão. No entanto, essa diferença não é detectada no grupo SHEDs em relação ao grupo Controle, indicando uma neuroproteção por parte do tratamento.

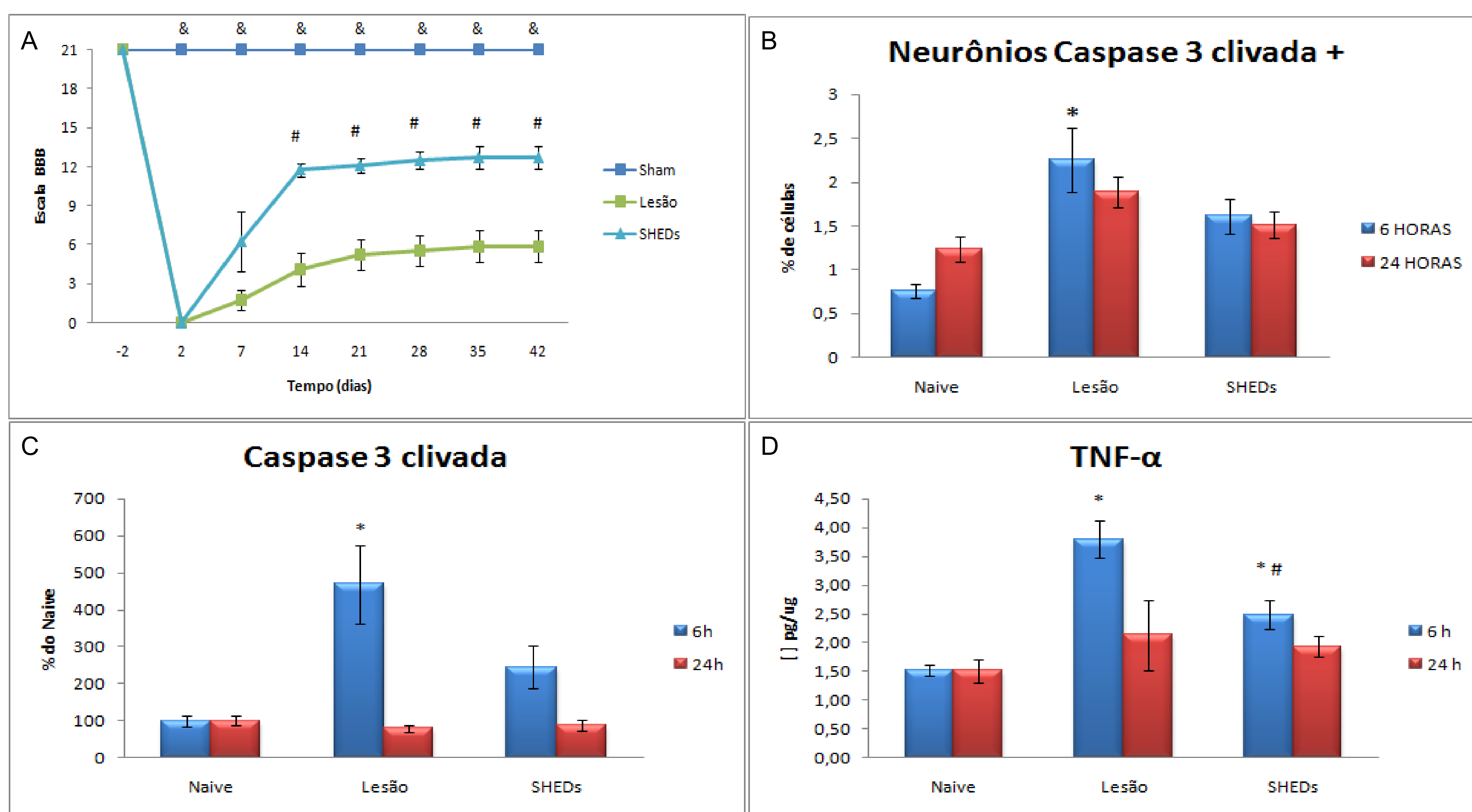


Fig. 1. (A) Avaliação funcional realizada por meio da escala de Basso, Beattie e Bresnahan (BBB). (B) Níveis de apoptose em neurônios medidos por citometria de fluxo. (C) Níveis totais de apoptose medidos por Western Blot. (D) Níveis de TNF- α medidos por ELISA. & diferença quando comparado com os demais grupos; * diferença quando comparado com o grupo Naive; # diferença quando comparado com o grupo Lesão ($p < 0,05$).

Conclusão: As células promovem a melhora funcional após a lesão medular e reduzem os níveis de apoptose em 6 horas. Parte da redução da morte por apoptose está presente nos neurônios, e essa pode ser relacionada com a via extrínseca e intrínseca, pois reduziu os níveis de TNF- α e estabilizou os níveis de BCL-XL.