



Evento	Salão UFRGS 2015: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Análise da influência do oxigênio em células tronco embrionárias humanas por meio de ferramentas de Biologia de Sistemas
Autor	HENRIQUE CHAPOLA
Orientador	DIEGO BONATTO

As células tronco embrionárias humanas (CTEh) possuem capacidade de diferenciar para estruturas derivadas dos folhetos embrionários, sendo amplamente utilizadas em diversas áreas da pesquisa. Fisiologicamente, as CTEh permanecem em 5% de O₂. Porém, *in vitro*, é normal que as mesmas sejam expostas a 21% de O₂. Com isso, esse trabalho tem por objetivo analisar a influência do O₂ atmosférico nas CTEh e prospectar moléculas importantes para a manutenção da sua pluripotência.

Para tanto, foi realizada uma análise transcriptômica utilizando dados de expressão gênica disponível no banco de dados GEO (matriz GSE37761). Os genes diferencialmente expressos (GDEs) foram avaliados usando o pacote *limma*, implementado no programa R, considerando como grupo controle dados de CTEh à O₂ 1%, e como grupo experimental as células expostas à O₂ 21%, nos períodos de 0,5, 1, 5 e 10 dias. Adicionalmente, foram usados os valores de corte de $\log_2FC \geq 1,5$ e valor de *p* ajustado $\leq 0,05$. Os GDEs obtidos foram utilizados como *input* para a prospecção de redes interatômicas no banco de meta-dados STRING 9.1. As análises de centralidades (*hubs-bottlenecks*), clusterização e ontologia gênica foram realizadas no Cytoscape 2.8.3 pelos plugins Centiscape 1.21, AllegroMCODE e BinGO 2.44, respectivamente.

Como resultado, foi observado em 0,5 dias a superexpressão de WNT1 e FZD8, que são reguladores positivos da via da Wnt. Apesar de ser uma conhecida via de manutenção de pluripotência e auto-renovação das CTEh, não houveram ontologias relacionadas a manutenção das CTEh ou expressão diferenciada de marcadores de pluripotência. Porém, ontologias relacionadas a neurogênese foram observadas, juntamente com a superexpressão de fatores neurogênicos, tais como PAX3, FOXG1, e FGF8. Da mesma forma, observou-se a superexpressão de SIN3A, um gene relacionado com a manutenção de integridade genômica, bem como a superexpressão de genes associados a sobrevivência, como os elementos da via da Wnt e ERBB2 e subexpressão de fatores pró-apoptóticos (NR4A2 e NGFR). Já em 1 dia, verificou-se a ativação da via da NF- κ B, indicada pela superexpressão de reguladoras positivas, como TIRAP, MYD88, CHUK e BTRC. Concomitantemente, nesse período também se observou que reguladores negativos (APC, GSK3B, BTRC) da CTNNB1 estavam superexpressos, demonstrando uma menor ativação da via canônica de Wnt. Segundo a literatura, a menor atividade da via da Wnt associada com a ativação da via da NF- κ B são necessárias para a etapa primária de diferenciação de CTEh em linhagens neurais. No período de 5 dias, reguladores negativos (APC, GSK3B, DKK1, BTRC) da via da Wnt não possuem diferença de expressão, enquanto há superexpressão de reguladores positivos (WNT1, WNT3A, FZD8). A WNT3A é conhecida por participar ativamente em linhagens de células tronco neurais (CTNs) e progenitoras neurais durante o desenvolvimento, em processos como proliferação e diferenciação. Adicionalmente, genes regulados pela via Wnt estão superexpressos, como os fatores de transcrição PAX6, PAX3, HES5, MSX1 que apresentam importante papel neurogênico e a fosfolipase PLA2G2A que promove a proliferação e manutenção do estado tronco de CTNs. Por fim, em 10 dias vemos tanto a superexpressão de vários marcadores neurais (MSX1, PAX3, POU4F1, NEUROD1, HES5, SOX1), além da via da NF- κ B, cuja atividade tem papel no destino celular de CTNs e na maturação de células neurais em diferenciação.

Este trabalho indica que a exposição a O₂ atmosférico interfere no perfil transcriptômico de CTEh, afetando sua capacidade pluripotente, uma vez que é observado diferenciação neural, indicado principalmente por marcadores específicos e pelas alterações de ativação das vias de Wnt e NF- κ B. Com isso, poderão ser prospectadas moléculas-chave que auxiliem na atenuação dos efeitos do O₂ para complementar meio de cultura de CTEh.