

Título: Identificação de células mesenquimais indiferenciadas do ligamento periodontal de humanos que apresentam alto potencial osteoblástico/cementoblástico.

Flavia D. Schiabel (IC), Miki T. Saito (PG), Francisco H Nociti Jr (PQ), Enilson Sallum (PQ), Marcio Casati (PQ), Karina G. S. Ruiz(PQ)

Resumo

O presente estudo tem como objetivo geral isolar e caracterizar populações homogêneas de células mesenquimais indiferenciadas do ligamento periodontal de humanos, que apresentam alto potencial para diferenciação osteoblástica/cementoblástica. Para tal, clones celulares foram obtidos de uma única população de células progenitoras do ligamento periodontal e avaliados quanto ao potencial osteogênico. A partir de um total de 48 clones, somente dois apresentaram capacidade para diferenciação osteoblástica/cementoblástica. Esses clones apresentaram proliferação semelhantes, expressão positiva para STRO-1 e não tiveram a capacidade de diferenciarem-se em células semelhantes a adipócitos. Os dados sugerem que as células progenitoras mesenquimais do ligamento periodontal são heterogêneas e que, os clones com alto potencial osteo/cementoblástico já apresentam algum comprometimento fenotípico não sendo caracterizados como células indiferenciadas

Palavras Chave: osteoblasto, ligamento periodontal, células progenitoras.

Introdução

O presente estudo tem como objetivo geral isolar e caracterizar populações homogêneas de células mesenquimais indiferenciadas do ligamento periodontal de humanos, que apresentam alto potencial para diferenciação osteoblástica/cementoblástica, avaliando a relação entre a expressão do antígeno de superfície CD105 e o potencial osteoblástico destas células.

Resultados e Discussão

Colônias celulares derivadas de uma única célula foram obtidas pela técnica do cilindro de clonagem. Em seguida, para identificar os clones celulares que apresentavam potencial par diferenciação osteo/cementoblástica e delinear suas características funcionais e fenotípicas, foram realizados os seguintes ensaios: 1) tempo de duplicação celular, 2) imunocitoquímica para STRO-1, 3) diferenciação osteoblástica avaliada pelo ensaio de vremelho de alizaria e expressão de RUNX2 e ALP por PCRq e 4) diferenciação adipogênica avaliada por coloração de oil red O e expressão de PPAR2 e LPL. Um total de 48 clones foram obtidos a partir de uma população de células progenitoras mesenquimais. Todos os clones demonstraram ser altamente proliferativos e expressarem o marcador mesenquimal STRO-1. Sob condição osteogênica, somente dois clones, denominados C13 e C48, foram capazes de produzir nódulos minerais in vitro e expressarem níveis elevados dos genes RUNX2 e ALP comparados ao grupo não tratado ($p < 0,05$). Em condição de cultura adipogênica,

nenhum dos clones foram capazes de formarem vacúolos de lipídeo e de expressarem os genes para PPAR2 e LPL.

Conclusões

Os achados sugerem que as células progenitoras do ligamento periodontal compreendem uma população de células heterogêneas, a qual é composta por um grupo celular com alto potencial osteo/cementoblástico e baixo potencial adipogênico. Desta maneira, é possível supor que esses clones celulares já estão comprometidos com o fenotipo osteoblástico, não podendo ser caracterizados como células progenitoras indiferenciadas.

Agradecimentos

Fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Número do processo: 2014/24390-5

Referências:

1. Silverio KG, Rodrigues TL, Coletta RD, Benevides L, Da Silva JS, Casati MZ, et al. Mesenchymal Stem Cell Properties of Periodontal Ligament Cells From Deciduous and Permanent Teeth. *J Periodontol.* 2010 May 17;81(8):8.
2. Saito MT, Salmon CR, Amorim BR, Ambrosano GM, Casati MZ, Sallum EA, et al. Characterization of Highly Osteoblast/Cementoblast Cell Clones From a CD105-Enriched Periodontal Ligament Progenitor Cell Population. *J Periodontol.* 2014 Jun;85(6):e205-11.
3. Singhatanadgit W, Donos N, Olsen I. Isolation and characterization of stem cell clones from adult human ligament. *Tissue Eng Part A.* 2009 Sep;15(9):2625-36.
4. McFarland DC. Preparation of pure cell cultures by cloning. *Methods Cell Sci.* 2000 Mar;22(1):63-6.