

## O PAPEL DA HIF-1 $\alpha$ NA MINERALIZAÇÃO UTILIZANDO CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIAS HUMANAS (HMSCS): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

CAROLINA SAMPAIO DE AZEVEDO<sup>1</sup>; MARIANE DUTRA JOANOL<sup>2</sup>; TIAGO MACHADO DA SILVA<sup>3</sup>; WELLINGTON LUIZ OLIVEIRA DA ROSA<sup>4</sup>; ADRIANA FERNANDES DA SILVA<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – carolsampaio\_a@live.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – marianejoanol@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – tiagomachado91@hotmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – wellington\_xy@outlook.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – adrisilvapiva@hotmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

As células estaminais mesenquimais (MSCs) fornecem uma fonte para modelos de diferenciação, terapia celular e medicina regenerativa. As MSCs podem ser isoladas de vários tecidos mesenquimatosos adultos, incluindo tecido ósseo (SEKIYA ET AL., 2002; SEKIYA ET AL., 2004). Enquanto isso, o HIF-1 funciona como um regulador mestre do oxigênio e sofre mudanças conformacionais na resposta às concentrações de oxigênio (BRUICK; MCKNIGHT, 2001).

Segundo YOSHIDA et al. (2009), a aplicação de condições hipóxicas sobre as células-tronco mesenquimais resulta em melhor eficiência na diferenciação pluripotente tanto de células de rato, como de células humanas. Ainda de acordo com TUNCAY et al (1994), a tensão do oxigênio serve para modular a atividade osteoblástica.

Adicionalmente, a condição de hipoxia é caracterizada por baixa concentração de oxigênio e expressão celular de HIF1 $\alpha$ . E embora, o oxigênio seja uma importante molécula de sinalização bioquímica no organismo, e exerce função na proliferação, migração, adesão, sobrevivência, metabolismo, secreção e diferenciação de células-tronco mesenquimais (MSCs) (TSALI et al., 2011) em condições de hipoxia prolongada pode levar à apoptose, dependendo do tipo celular. No entanto, o condicionamento sob hipoxia confere benefícios citoprotetores, pois facilita o desenvolvimento celular, mantém a pluripotência de MSC, induz a diferenciação, regula a sinalização de várias cascadas (HOCHACHKA et al., 1996).

Os tecidos mineralizados, isto é, tecido ósseo, da dentina e do esmalte, são formados por mecanismos de mineralização mediados pela matriz em que o colágeno tipo I forma o modelo estrutural para a nucleação epitaxial da hidroxiapatita.

De acordo com SEGUNDO & VASCONCELOS (2007), em odontologia, estratégias de engenharia tecidual dentária poderão, no futuro, ser usadas para inúmeros tratamentos odontológicos. No entanto, maiores conhecimentos sobre isolamento de células-tronco, seus nichos, bem como os mecanismos moleculares de crescimento e diferenciação celular são necessários para que se possa utilizar a terapia celular na odontologia.

Com os avanços na engenharia tecidual, experimentos com a hipoxia, que tem se mostrado como um fator estimulante para a regeneração e eficácia terapêutica, estão cada vez mais possíveis de serem realizados. Entretanto, os efeitos do condicionamento hipóxico sobre hMSCs ainda não estão totalmente elucidados, especialmente em se tratando de formação de tecido mineralizado.

Assim, o objetivo desta revisão sistemática foi avaliar a influência da HIF-1 $\alpha$  em células-tronco mesenquimais humanas sobre a formação de tecido mineralizado (osso, dentina e esmalte).

## 2. METODOLOGIA

A busca sistemática de artigos foi realizada em sete bases de dados (PubMed (MedLine), Web of Science, Scopus, Scielo, Ibecs, Lilacs e BBO). Para o processo de busca, foram utilizados termos específicos relacionados à hipoxia, células-tronco mesenquimais e formação de tecido mineralizado. Para importação dos documentos encontrados nas bases de dados foi utilizado o software Mendeley (Elsevier, Amsterdam, NL), onde foi feita leitura de título e título dos documentos, bem como remoção de duplicatas. Após esse primeiro processo de triagem, os artigos selecionados foram lidos na íntegra para tabulação e extração de dados de acordo com critérios de inclusão previamente estabelecidos. Foram incluídos estudos que apresentassem a condição de hipoxia em seu experimento com células tronco mensequimais dos últimos 3 anos e que abrangessem a mineralização. Foram excluídas teses, dissertações, revisões, relatos de caso, bem como células-tronco provenientes de tecidos ou células tumorais. Os seguintes dados de interesse foram tabulados no formato de planilha do software Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, EUA): tipo de estudo, ano de publicação, país, origem anatômica da célula utilizada, e metodologia de utilização da hipoxia (porcentagem, tempo de indução e objetivo da hipoxia). As principais descobertas de cada estudo também entraram no processo de tabulação.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 1662 estudos potencialmente relevantes foram identificados a partir de todas as bases de dados. Após análise e triagem dos documentos, 184 estudos foram analisados qualitativamente. No final da análise qualitativa, foram incluídos 42 estudos.

As células utilizadas na maioria dos experimentos eram de medula óssea, seguidas de tecido adiposo e cordão umbilical. As passagens celulares mais usadas variaram de 3 a 7 passagens.

As principais concentrações de oxigênio para o condicionamento da hipoxia foram 1 e 5%, respectivamente, com o tempo de indução variando de 24h a 72h na maioria dos experimentos. O dispositivo de condicionamento de hipoxia mais utilizado nos documentos analisados foi a câmara de hipoxia, seguida da incubadora, utilizando pré-condicionamento sob hipoxia, hipoxia contínua ou hipoxia intermitente.

Através dos documentos analisados, pode-se constatar que a osteogênese ocorre em condições de privação de soro e hipoxia, sendo as células mesenquimais isoladas dos tecidos dentários as com maior capacidade de diferenciação multilinhagem. Tal diferenciação osteogênica teve melhor desempenho sob hipoxia (REFERENCIAS), principalmente no efeito paracrino, uma vez que muitos estudos realizaram apenas a análise das proteínas liberadas para o meio de cultura onde houve a indução de hipoxia nas células.

As células-tronco da origem dental e seus anexos ainda são pouco estudadas, talvez devido à dificuldade de isolamento. Um estudo (IOHARA, 2006) demonstrou que as células-tronco são aproximadamente 0,2% das células totais que residem dentro da polpa dentária. A cultura in vitro de MSCs em condições

hipóxicas mostrou benefícios na manutenção da auto renovação celular, migração, formação de tubo vascular e liberação de fatores paracrinos para propriedades quimiotáticas e proangiogênicas, especialmente em se tratando de tecido mineralizado (BALAS, 2007).

A expressão de HIF-1 $\alpha$  está sujeita a hidroxilação dependente da variação da tensão de oxigênio. Quando há hipóxia, o HIF-1 $\alpha$  é transladado ao núcleo, a hidroxilação é inibida por privação de oxigênio e HIF-1 $\alpha$  se acumula, mediando alterações significativas em metabolismo celular, como a expressão de genes envolvidos no metabolismo energético, angiogênese e apoptose, e é um regulador da resposta homeostática à hipóxia (MANALO, 2005; HAQUE, 2013).

Foi evidenciado que a formação de tecido mineralizado ocorre efetivamente em condições de privação de soro e hipóxia, que imita condições insalubres??, como a isquemia, por exemplo (RAJENDRANNAIR; KARUNAKARAN; NAIR, 2017).

#### 4. CONCLUSÕES

A presente revisão sistemática permitiu concluir que a hipóxia regulada pela HIF-1 $\alpha$  pode ser grande auxiliadora na diferenciação osteoblástica, influenciando de forma positiva a formação de tecido mineralizado e assim, ser de extrema importância de ser explorado esta condição em futuros estudos na área de engenharia tecidual.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALAS, B. et al. The dipeptidyl peptidase IV inhibitor vildagliptin suppresses endogenous glucose production and enhances islet function after single-dose administration in type 2 diabetic patients. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 4, p. 1249-1255, 2007.

BENIASH E, TRAUB W, VEIS A, WEINER S. A transmission electron microscope study using vitrified ice sections of predentin: structural changes in the dentin collagenous matrix prior to mineralization. **J Struct Biol** 2000;132:212 – 25.

BRUICK R.K., MCKNIGHT S.L. A conserved family of prolyl-4- hydroxylases that modify HIF. **Science** 2001;294:1337-40.

HAQUE, N. et al. Hypoxic culture conditions as a solution for mesenchymal stem cell based regenerative therapy. **The Scientific World Journal**, v. 2013, 2013.

IOHARA, K. et al. Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. **Stem cells**, v. 24, n. 11, p. 2493-2503, 2006.

MANALO, D. J. et al. Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. **Blood**, v. 105, n. 2, p. 659-669, 2005.

RAJENDRANNAIR, D. S.; KARUNAKARAN, J.; NAIR, R. R. Differential response of human cardiac stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells to hypoxia–reoxygenation injury. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 425, n. 1-2, p. 139-153, 2017.

SEKIYA I., VUORISTO J.T., LARSON B.L., PROCKOP D.J. In vitro cartilage formation by human adult stem cells from bone marrow stroma defines the sequence of cellular and molecular events during chondrogenesis. **Proc Natl Acad Sci USA** 2002; 99: 4397–402.

SEKIYA I., LARSON B.L., VUORISTO J.T., CUI J.G., PROCKOP D.J. Adipogenic differentiation of human adult stem cells from bone marrow stroma (MSCs). **J Bone Miner Res** 2004; 19: 256–64.

TSAI, C.C.; CHEN, Y.J.; YEW, T.L.; CHEN, L.L.; WANG, J.Y.; CHIU, C.H.; HUNG, S.C. Hypoxia inhibits senescence and maintains mesenchymal stem cell properties through down-regulation of E2A-p21 by HIF-TWIST. **Blood**, n. 117, p. 459–469, 2011.

TUNCAY, O. C.; HO, D.; BARKER, M. K. Oxygen tension regulates osteoblast function. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 105, n. 5, p. 457-463, 1994.

UTTING, J. C. et al. Hypoxia inhibits the growth, differentiation and bone-forming capacity of rat osteoblasts. **Experimental cell research**, v. 312, n. 10, p. 1693-1702, 2006.

YOSHIDA, Y. et al. Hypoxia enhances the generation of induced pluripotent stem cells. **Cell stem cell**, v. 5, n. 3, p. 237-241, 2009.