

O EFEITO DA HIPÓXIA SOBRE A MINERALIZAÇÃO COM A UTILIZAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIAS (HMSCS): UMA REVISÃO SISTEMÁTICA.

CAROLINA SAMPAIO DE AZEVEDO¹; JULIANA SILVA RIBEIRO²; RAFAEL GUERRA LUND³; WELLINGTON LUIZ OLIVEIRA DA ROSA⁴; ADRIANA FERNANDES DA SILVA⁵

¹*Universidade Federal de Pelotas – carolsampaio_a@live.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – scribeirooj@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – adrisilvapiva@gmail.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).

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 hipóxia é caracterizada por baixa concentração de oxigênio e expressão celular de HIF1α. E, embora, o oxigênio seja uma importante molécula de sinalização bioquímica no organismo, exercendo função na proliferação, migração, adesão, sobrevivência, metabolismo, secreção e diferenciação de células-tronco mesenquimais (MSCs) (TSAL et al., 2011), em condições de hipóxia prolongada pode levar à apoptose, dependendo do tipo celular.

Acredita-se que a hipóxia seja o principal estímulo responsável pelo início da cascata osteogênica durante o desenvolvimento e após o traumatismo ósseo. Os osteoblastos estão idealmente localizados no osso de maneira que possam sentir a tensão de oxigênio e responder à hipóxia ativando a via HIF-α (WANG et al., 2007).

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.

Com os avanços na engenharia tecidual, experimentos com a hipóxia, 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 hipóxia 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 hipóxia, 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 hipóxia em seu experimento com células tronco menseguimais 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 hipóxia (porcentagem, tempo de indução e objetivo da hipóxia). Foram coletados dados referentes à: autores, ano de publicação, tipo de célula, tipo de estudo do local do tecido, concentração de oxigênio utilizada, aos métodos de avaliação, curso de indução e aos achados principais sobre mineralização. As principais descobertas de cada estudo também entraram no processo de tabulação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram recuperados um total de 1662 documentos potencialmente relevantes. Após a remoção das duplicatas e leitura de título e resumos, 70 estudos foram submetidos a análise qualitativa. A maior parte dos estudos (55,5%) utilizou células a partir da medula óssea.

Artigos por sítio de coleta de células

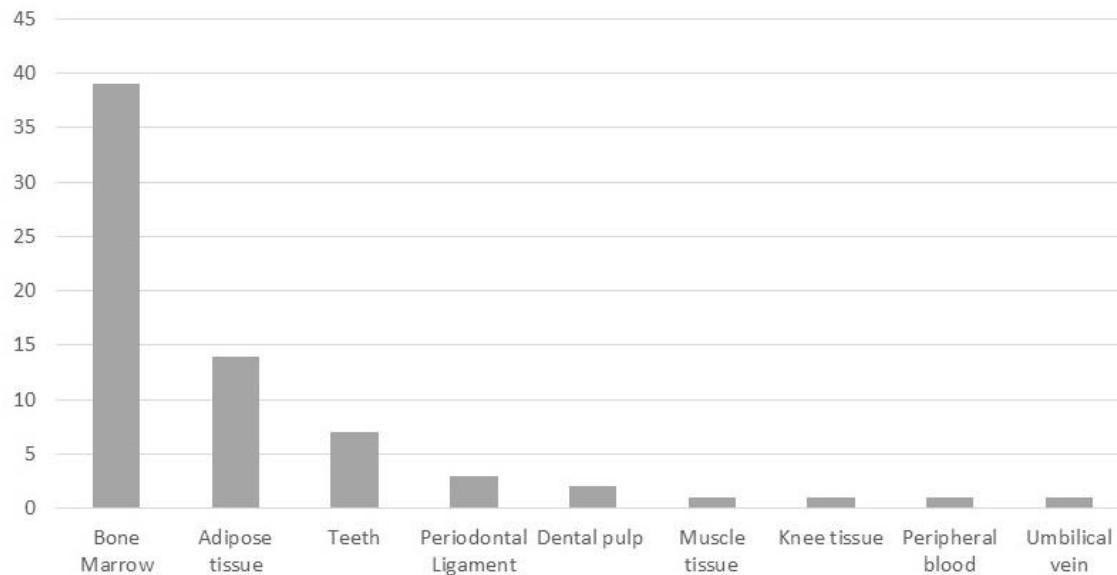


Gráfico 1. Representação dos artigos por sítio de coleta celular.

As passagens celulares mais usadas variaram de 3 a 7 passagens. As porcentagens de hipóxia variaram de 1 a 5% respectivamente. Não foi observada nenhuma relação entre a porcentagem de hipóxia (1%-5%) e o potencial de

indução de mineralização. O tempo de indução variou de 24h a 72h na maioria dos experimentos. O dispositivo de condicionamento de hipóxia mais utilizado nos documentos analisados foi a câmara de hipóxia, seguida da incubadora, utilizando pré-condicionamento sob hipóxia, hipóxia contínua ou hipóxia intermitente. Dos artigos que avaliaram as células provenientes da medula óssea (51% dos artigos), relatam que o uso da hipóxia melhorou o metabolismo celular, sendo pelo aumento da expressão de proteínas como HIF-1 α , CXCR4, mRNA do VEGF e FGF-2 ou pela redução dos níveis de apoptose. 49% dos estudos não observaram aumento de mineralização ou expressão de proteínas relacionadas quando as células estavam sob hipóxia, concluindo que a baixa tensão de oxigênio é desfavorável para diferenciação osteogênica de hMSCs *in vitro*. Quando as células eram provenientes do tecido adiposo, houve aumento de proliferação e liberação de proteínas em 64% dos estudos. Nos outros sítios de coleta das hMSCs, como dente, placenta, ligamento periodontal, cordão umbilical, e tecido muscular foram encontrados poucos artigos, por isso as análises em porcentagens podem ser superestimadas gerando distorção nos dados.

Segundo 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.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, os achados na literatura não são concisos sobre a relação da hipóxia e as taxas de mineralização das hMSCs. Embora, as células estaminais precisam da hipóxia em seus ambientes naturais em seus nichos, não há consenso na literatura sobre as taxas de hipóxia, sua ação no metabolismo e na taxa de mineralização das hMSCs.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 U S A** 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.

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.

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.

WANG, Y. et al. Oxygen sensing and osteogenesis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1117, n. 1, p. 1-11, 2007.

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