

Tecido muscular: uma força a mais para a saúde

Natália Cristine Dias dos Santos*

Departamento de Ciências Biológicas. Faculdade de Ciências e Letras. Univ Estadual Paulista. UNESP- Câmpus de Assis. Avenida Dom Antonio, 2100, Parque Universitário - 19806-900 - Assis-SP. * nataliacristine93@hotmail.com

Palavras-chave: células-tronco, lesões musculoesqueléticas, tecido muscular, terapia celular, xenobióticos

Você já imaginou se as pessoas que sofrem de danos ou lesões musculares pudessem acabar com suas dores e recuperar a atividade dos músculos apenas com tratamento a partir de injeções de células-tronco? E o quão incrível seria se este tratamento não oferecesse riscos à saúde dos pacientes? Para aumentar nosso otimismo, técnicas baseadas em isolamento e cultivo de células-tronco para este fim já estão sendo profundamente estudadas. Coube a equipe do Laboratório de Genética e Terapia Celular (GenTe Cel), da Unesp de Assis-SP, analisá-las e, estabelecer uma nova metodologia mais segura em comparação às metodologias já existentes que fazem uso de reagentes de origem animal e bacteriana.

Milhares de pessoas ao redor do mundo têm sofrido com o elevado número de casos de lesões musculoesqueléticas, tornando-se um importante problema de saúde pública. A qualidade de vida dos portadores destas lesões é afetada, resultando em problemas sociais e econômicos, uma vez que muitas destas pessoas deixam de trabalhar por não conseguirem realizar determinadas atividades físicas ou por intensas dores.

Você deve estar se perguntando o que exatamente são lesões musculoesqueléticas. As lesões

musculoesqueléticas são danos que atingem estruturas como os músculos, as articulações, os tendões, os ligamentos, os nervos e os ossos. Estas são causadas por movimentos repetitivos, por exercício físico realizado inadequadamente, ou até mesmo pelo avanço da idade. Atletas, idosos e portadores de doenças genéticas musculares são os que mais sofrem estas lesões, ocorrendo frequentemente danos no revestimento do músculo, o sarcolema. Habitualmente, o próprio corpo se encarrega de reparar tais danos, mas muitas vezes os processos de reparação tornam-se lentos e incompletos devido à **fibrose**. Portanto, é de grande interesse a busca por novas opções de tratamento com potencial para reparar este problema, como por exemplo, a terapia celular com uso de células-tronco.

A terapia celular é definida como a restauração da função de um órgão ou tecido, aplicando novas células para substituir as células perdidas pela doença, ou substituir células que não funcionam corretamente devido a um defeito genético. Já as famosas células-tronco, são células capazes de se auto-renovarem através da divisão celular, podendo originar tipos especializados de células dos diferentes tecidos do corpo humano (Figura 1). Dentre as diversas alternativas, as **células-tronco mesenquimais** são altamente vantajosas quando comparadas aos outros tipos, devido às seguintes razões: a) são facilmente obtidas a partir de diversas fontes, b) não causam danos à saúde quando empregadas em outros pacientes, uma vez que o organismo não as reconhece como corpos estranhos, e c) podem se diferenciar em três diferentes linhagens celulares: **adipogênica, condrogênica e osteogênica**.

Com esta finalidade, as células-tronco mesenquimais de tecido muscular têm sido empregadas no tratamento de lesões musculares. Dentre todas as fontes de células-tronco presentes no nosso corpo, o tecido muscular é uma fonte altamente vantajosa, uma vez que este representa 40% de toda a nossa massa corporal, e os métodos de obtenção são menos dolorosos quando comparados às demais extrações de células-tronco.

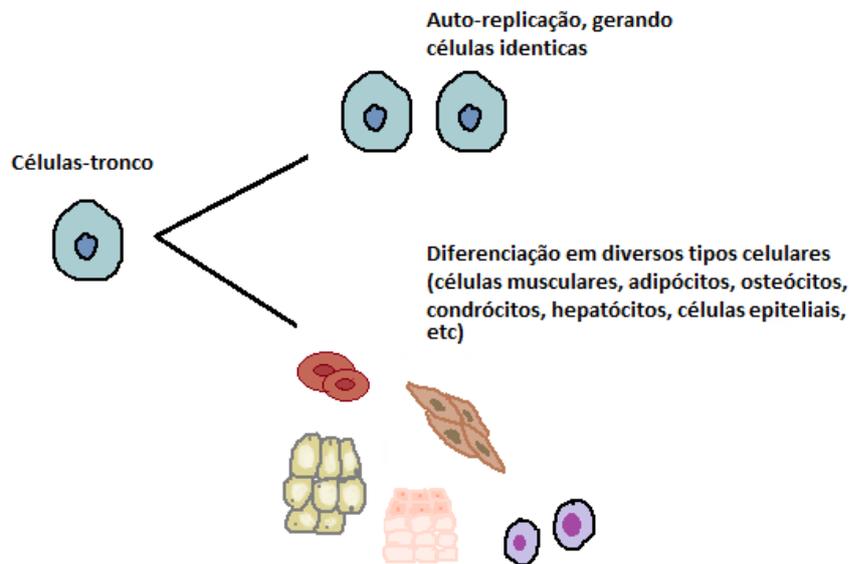


Figura 1 - Esquema ilustrativo sobre as propriedades das células-tronco mesenquimais.

As técnicas já realizadas para o isolamento e cultivo de células-tronco mesenquimais do tecido muscular utilizam a colagenase bacteriana. A colagenase é uma enzima produzida por bactérias, que destrói o **colágeno** (proteína presente nos tendões, músculos, cartilagens e ossos), possibilitando a digestão do tecido. Esta enzima pode oferecer riscos à saúde dos pacientes, por contaminação. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), responsável por fiscalizar e autorizar serviços e produtos destinados à saúde e à vigilância sanitária aconselha que o uso destes reagentes **xenobióticos** seja evitado em cultivos de células que tenham por finalidade procedimentos de terapia celular em pacientes humanos. Portanto, foram testadas três metodologias diferentes de isolamento de células-tronco mesenquimais de tecido musculoesquelético, objetivando eliminar o uso de reagentes xenobióticos. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).

Amostras de tecido muscular dos membros inferiores de camundongos (com aproximadamente 24 dias) foram submetidas a três diferentes procedimentos de isolamento de células-tronco mesenquimais: técnica de explante, dissociação mecânica e digestão enzimática. A

técnica de explante é uma metodologia simples, onde quatro pequenos pedaços do tecido muscular foram limpos com a pinça, e padronizados com aproximadamente 0,5cm. Os quatro pedaços foram colocados na placa de cultura, juntamente com suplementos para o crescimento e manutenção das células. O procedimento de dissociação mecânica foi realizado a partir da raspagem do tecido, com agulhas dobradas em z. O tecido foi raspado até obtermos a fragmentação total deste, em pedaços muito pequenos. Já na digestão enzimática, a enzima bacteriana colagenase foi a responsável por processar o tecido, deixando-o com uma consistência pastosa. O material obtido por cada técnica foi filtrado e centrifugado. O concentrado de células-tronco mesenquimais (*pellet*) formado após a centrifugação foi colocado em placas apropriadas para o cultivo, e posterior **proliferação celular** (Figura 2). As culturas foram analisadas diariamente.

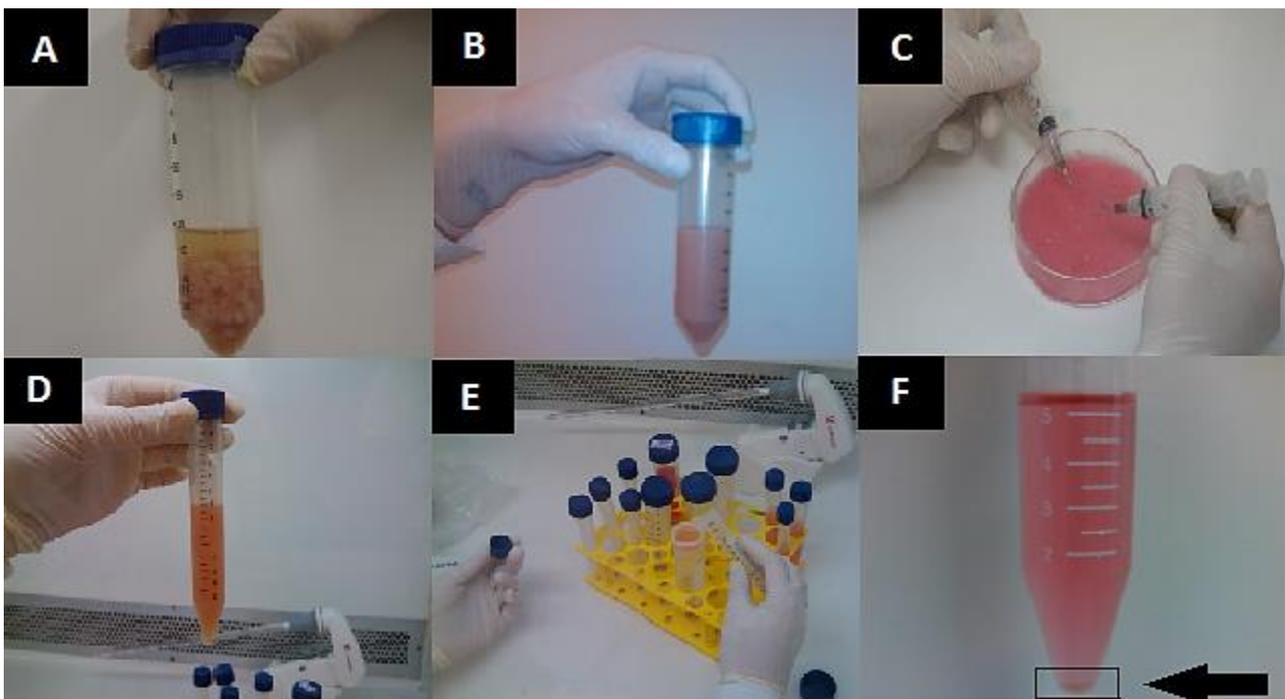


Figura 2 – Metodologia para cultivo de células-tronco a partir do tecido muscular. A: Tecido muscular obtido de camundongos; B: Tecido muscular resultante da digestão enzimática com colagenase; C: Dissociação mecânica do tecido muscular; D: Células-tronco isoladas de tecido muscular após a dissociação mecânica; E: Filtração; F: Formação do *pellet* (seta) após a centrifugação das células.

Após a proliferação celular em larga escala, as células-tronco mesenquimais em cultura

foram comparadas por curvas de crescimento, as quais demonstram o crescimento das células, em quantidade, durante um período de tempo determinado. Além disso, as células-tronco mesenquimais obtidas pelos três procedimentos foram analisadas pela capacidade de originar células de gordura, cartilagem e osso (Figura 3).

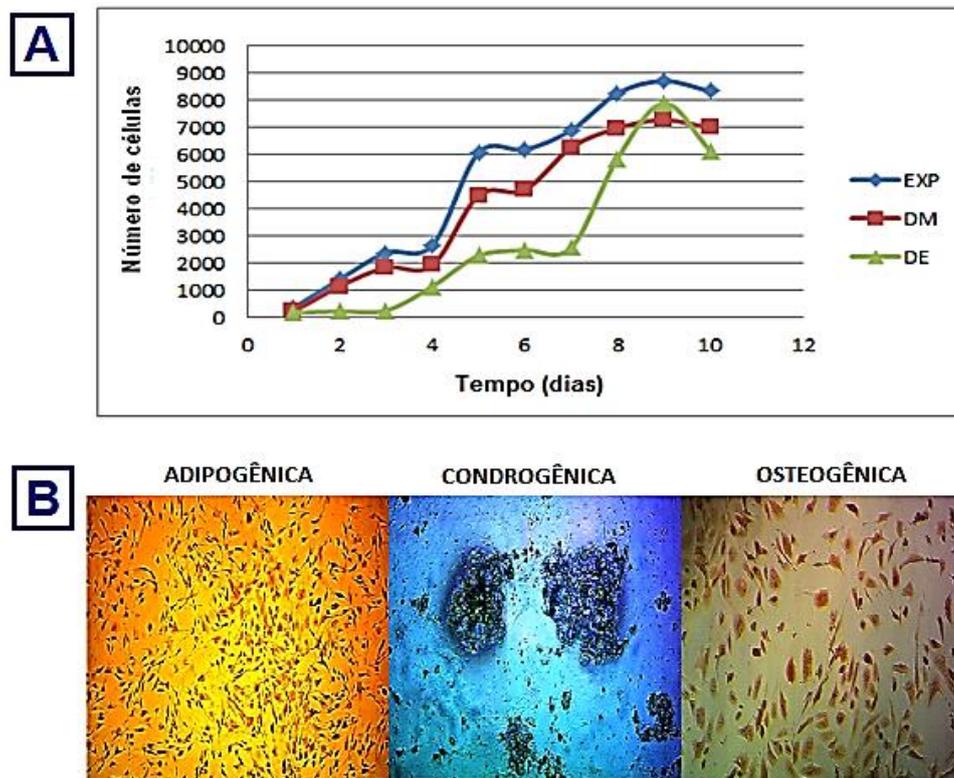


Figura 3 - (A) Curvas de crescimento resultantes dos procedimentos de isolamento de células-tronco mesenquimais de tecido muscular por meio de Explante (EXP), Dissociação mecânica (DM) e Digestão enzimática (DE); (B) Diferenciação em múltiplas linhagens.

Os procedimentos de isolamento celular por dissociação mecânica e explante proporcionaram maior crescimento, sendo a técnica de explante a que apresentou o melhor desempenho (Figura 3). Com esses resultados, concluiu-se que é possível usar técnicas que não fazem uso de reagentes de origem bacteriana (colagenase) para isolar e cultivar células-tronco mesenquimais do tecido muscular. As técnicas de explante e dissociação mecânica representam alternativas válidas, de baixo custo, além de seguir as recomendações da ANVISA, que aconselha

evitar o uso de reagentes xenobióticos (como a colagenase) em culturas de células que tenham por finalidade procedimentos de terapia celular em pacientes humanos.

Glossário

Células-tronco mesenquimais - População de células do estroma do tecido (parte que dá sustentação às células) que têm a capacidade de se diferenciar em diversos tecidos.

Colágeno - Classe de proteína insolúvel, presente no tecido conjuntivo. Responsável por manter as células unidas e fortalecê-las. Realiza cicatrização e/ou regeneração em caso de corte ou cirurgia.

Fibrose - Cicatriz interna que pode impedir a contração muscular adequada, impossibilitando o músculo de voltar ao estado normal de relaxamento, resultando em dor crônica.

Linhagens adipogênica, condrogênica, osteogênica – Linhagens de células que se diferenciarão em gordura, cartilagem e osso, respectivamente.

Proliferação celular - Crescimento em quantidade de células por meio de divisões celulares.

Xenobiótico - Compostos estranhos ao organismo humano, que podem causar uma série de danos à saúde, uma vez que apresentam uma ação tóxica sobre nossas células.

Referências bibliográficas

Santos, N.C.D. 2015. **Diferentes metodologias para cultivo de células-tronco mesenquimais derivadas de tecido muscular**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Faculdade de Ciências e Letras, UNESP, Assis.