

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS QUE OCORREM DURANTE A DIFERENCIAÇÃO OSTEOGÊNICA DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS: REVISÃO DE LITERATURA

**Luisa Demoner Vicentini, Márcio Phillip Andrade Correia, Thais Gonçalves
Tavares, Emerson Alex Oliveira Souza, Leonardo Oliveira Trivilin, Jankerle
Neves Boeloni.**

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES,
Brasil, luisademoner@hotmail.com, phillipandrdec@outlook.com, thastavares@yahoo.com.br,
emersonsouza.medvet@gmail.com, leotrivilin@gmail.com, jankerle@gmail.com.

Resumo

As células-tronco mesenquimais (CTM) são frequentemente usadas em terapias clínicas e em pesquisas devido o seu alto poder de autorrenovação e diferenciação em outros tipos celulares. Além do seu potencial terapêutico, essas células apresentam ainda como vantagem a sua facilidade de extração de diversos tecidos, como a medula óssea e o tecido adiposo, que apresentam potencial de expansão *in vitro*. Devido a importância dessas células, o objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre as alterações morfológicas que ocorrem durante a diferenciação osteogênica de CTM da medula óssea. Para isso, foi realizado um levantamento de artigos publicados entre 2018 e 2023, utilizando critérios de relevância e priorizando estudos que abordavam o tema de forma ampla e clara, sendo selecionados 22 de 87 trabalhos. Conclui-se, portanto, que o estudo da morfologia de CTM é extremamente importante, visto que a estrutura e a função das células possuem íntima ligação, sendo necessário mais estudos dentro da medicina veterinária que elucidem melhor esse processo.

Palavras-chave: Células indiferenciadas. Potencial osteogênico. Morfologia celular.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Medicina Veterinária.

Introdução

Dentre os tipos de células-tronco, as mesenquimais (CTM) se destacam, sendo elas multipotentes, adultas, com capacidade de se diferenciarem em tipos específicos de linhagens celulares, dentre os quais pode-se citar as células do tecido ósseo, tecido adiposo, cartilaginoso e muscular (BARCELOS e OLIVEIRA, 2023; BARROS, 2022), podendo ser extraídas de locais como tecido adiposo e medula óssea, que apresentam destaque devido a abundância dessas células, por serem facilmente isoladas e apresentarem alto potencial de diferenciação *in vitro* (ALIEVI, 2021).

Assim, as CTM apresentam alto potencial de diferenciação osteogênica (RAMESH, 2020), se diferenciando em células do tecido ósseo como os osteoblastos que são responsáveis pela produção e secreção de fatores osteoides (BARROS, 2022). Nesse sentido, para que esse processo de diferenciação ocorra, são necessários fatores internos e externos, como fatores de crescimento, citocinas, fatores humorais e estímulos físico e/ou mecânico (HENAO *et al.*, 2021). Sabe-se ainda que o estudo da morfologia é de suma importância, visto que há uma conexão entre a forma celular com os marcadores potenciais avaliativos do fenótipo da célula, mudando sua forma e tamanho ao longo do período de diferenciação (GAVAZZO *et al.*, 2021). Visto isso, o objetivo deste trabalho é apresentar uma revisão de literatura sobre as alterações morfológicas que ocorrem durante a diferenciação osteogênica das células-tronco mesenquimais.

Metodologia

Esse estudo baseou-se na coleta de informações acadêmicas sobre o assunto, a partir de revisão bibliográfica criteriosa. Realizou-se buscas de material bibliográfico publicado entre 2018 e 2023, nos

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

idiomas português e inglês, por meio dos descritores “*Stem cells*”, “*Mesenchymal stem cells*”, “*Osteogenic differentiation*”, “*Osteogenesis*” e “*Cell morphology*”, combinados ou não, trazendo como critério de inclusão a indexação das plataformas de dados científicos Google Scholar, Pubmed e Scielo.

Resultados

O levantamento bibliográfico resultou em 87 artigos, que foram submetidos a leitura e estudo. Dentre eles, foram selecionados 22 trabalhos, que abordaram o tema de diferenciação osteogênica de forma clara e ampla. Foi também utilizado como critério, priorizar trabalhos que traziam informações como a definição de células-tronco e células-tronco mesenquimais e as alterações que ocorrem durante o processo de diferenciação osteogênica, como os demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Trabalhos utilizados no presente estudo e principais assuntos abordados.

Assunto principal	Trabalhos utilizados
Células-tronco	ALIEVI, 2021 ARBEX <i>et al.</i> , 2019 BARROS, 2022 COELHO, 2022 MENDES <i>et al.</i> , 2021 TURA, 2022 QUEIROZ, 2020
Células-tronco mesenquimais	BARCELOS e OLIVEIRA, 2023 BARROS, 2022 COSTA <i>et al.</i> , 2022 GAVAZZO <i>et al.</i> , 2021 IBÁÑEZ <i>et al.</i> , 2022 QUEIROZ, 2020 WANG <i>et al.</i> , 2018 BARROS, 2022 GAVAZZO <i>et al.</i> , 2021 MA <i>et al.</i> , 2022 SHAF AEI e KALARESTAGHI, 2020 SHARIFI <i>et al.</i> , 2020 VIDONI <i>et al.</i> , 2019 YANG <i>et al.</i> , 2021 ZHANG <i>et al.</i> , 2021
Diferenciação osteogênica	CUTIONGCO <i>et al.</i> , 2020 GAVAZZO <i>et al.</i> , 2021 WANG <i>et al.</i> , 2018 YANG <i>et al.</i> , 2021 ZHANG <i>et al.</i> , 2018
Alterações morfológicas	

Fonte: o autor.

Discussão

Células-tronco (CT) são definidas como indiferenciadas, não especializadas, e a partir de estímulos externos e internos são capazes de se autorrenovarem, se proliferarem e se diferenciarem em diversas linhagens celulares, e devido a essas características esse tipo celular é diferente dos demais (BARROS, 2022; MENDES *et al.*, 2021; TURA, 2022). As CT podem ser classificadas de acordo com seu potencial de diferenciação e sua origem (ALIEVI, 2021; QUEIROZ, 2020). Quanto a sua origem podem ser embrionárias, quando derivam da camada interna do blastocisto, podem se diferenciar em células da ectoderme, mesoderme e endoderme, se diferenciando de maneira espontânea *in vitro*. Podem ser também chamadas de adultas, podendo ser mesenquimais, epiteliais ou hematopoiéticas, e não se diferenciam com tanta espontaneidade (ALIEVI, 2021; ARBEX *et al.*,

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

2019). Ademais, quanto à sua potência, podem ser totipotentes, pluripotentes, multipotentes, oligopotentes e unipotentes (ARBEX *et al.*, 2019; BARROS, 2022; COELHO, 2022).

De acordo com Barcelos e Oliveira (2023), as células-tronco do tipo mesenquimal (CTM), são multipotentes, capazes de se diferenciar em outros tipos celulares, sendo citadas as células dos tecidos cartilaginoso, ósseo e adiposo. Além disso, essas células apresentam morfologia semelhante as células fibroblásticas em humanos, cães, felinos e ratos, com formato fusiforme e alongado (WANG *et al.*, 2018). Não obstante, essas células são capazes de se aderir à superfície plástica quando cultivadas *in vitro*, formando colônias e se diferenciando quando sofrem algum estímulo, podendo este ser físico, químico ou mecânico (QUEIROZ, 2020). Inicialmente, as células-tronco mesenquimais foram isoladas da medula óssea, sendo relatadas pela primeira vez em 1976 por Fridenstein e colaboradores (GAVAZZO *et al.*, 2021). Hoje, no entanto, sabe-se que essas células podem ser isoladas a partir de diversos tecidos, dentre os quais podem ser citados além da medula óssea, cordão umbilical, polpa dentária, tecido adiposo, ligamento peridontal e sangue periférico (COSTA *et al.*, 2022; QUEIROZ, 2020), sendo a medula óssea e o tecido adiposo as principais fontes (BARROS, 2022).

Dentre as muitas funções dadas as CTM, as mesmas possuem importante papel no que tange a cicatrização tecidual, assim como sua regeneração, além de uma capacidade imunomoduladora (GAVAZZO *et al.*, 2021). Esse papel regenerador pode ser explicado pelo fato delas serem capazes de secretar uma grande quantidade de citocinas, além de fatores de crescimento endotelial vascular e de hepatócitos, sendo que esses fatores de crescimento fazem estímulos para que os fibroblastos se proliferem, acelerando assim o processo de formação de novos vasos, colaborando na resposta inflamatória e na cicatrização (COSTA *et al.*, 2022). Por isso, hodiernamente essas células são vistas como essenciais na pesquisa clínica (IBÁÑEZ *et al.*, 2022), sendo usadas em diversas doenças como terapia oncológica, tratamento de doenças cardíacas, hepáticas e osteoarticulares (BARROS, 2022).

A diferenciação das células-tronco consiste em uma remodelação de morfologia e funcionalidade da célula que ocorre a partir de vias de processos dinâmicos. Esses processos decorrem junto com reprogramação transcricional e epigenética (VIDONI *et al.*, 2019), sendo que esta consiste em modificações na cromatina celular, sem que ocorra mudanças na sequência de DNA (MA *et al.*, 2022). Pode-se dizer ainda, que esse processo é induzido por uma série de eventos, sendo composto por várias etapas, que se iniciam na conversão nas células-tronco mesenquimais em células da linhagem osteogênica (SHAFAEI e KALARESTAGHI, 2020). Assim, segundo Zhang *et al.* (2021), as CTM-MO apresentam capacidade de se diferenciar em osteoblastos, que junto com as progenitoras mesenquimais, pré-osteoblastos, células de revestimento ósseo e os osteócitos, fazem parte da linhagem de células de formação óssea (GAVAZZO *et al.*, 2021).

De acordo com Gavazzo *et al.* (2021), as células osteoblásticas são caracterizadas pela expressão de marcadores como a osteocalcina, fosfatase alcalina e osteopontina, e os pré-osteoblastos, que são a transição das progenitoras para os osteoblastos maduros, geralmente expressam, o fator de transcrição Runx2 (Runt-related transcription factor) e além desse, o Osx (Osterix) quando atingem um estágio mais avançado, sendo esses fatores essenciais na indução da diferenciação osteogênica, uma vez que são capazes de alterar o perfil da expressão dos genes das CTM-MO para os genes da linhagem osteogênica que irão produzir o colágeno tipo I de acordo com a deposição na matriz extracelular (BARROS, 2022; SHARIFI *et al.*, 2020).

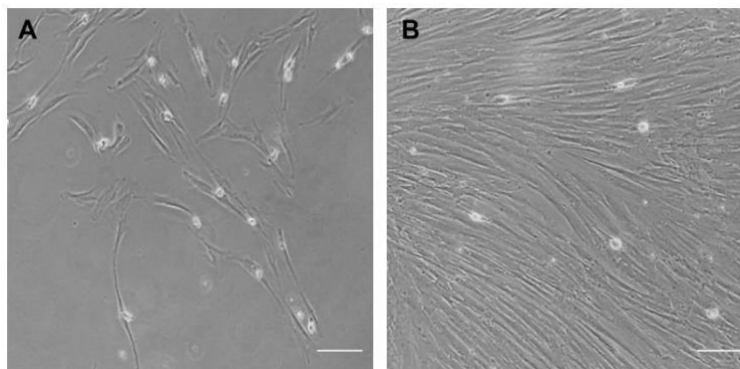
Segundo Yang *et al.* (2021), entender os mecanismos e os processos que acontecem durante a diferenciação osteogênica é de suma importância para o uso dessas células como medida terapêutica em doenças ósseas. Quando fala-se das mudanças morfológicas que ocorrem durante a diferenciação, seu estudo é importante visto que a estrutura e a função da célula possuem íntima ligação, ocorrendo uma mudança na forma e tamanho das células de maneira progressiva (CUTIONGCO *et al.*, 2020; GAVAZZO *et al.*, 2021), sendo que há uma conexão entre o estágio celular e sua forma, que permite considerar parâmetros morfológicos como marcadores potentes de avaliação do fenótipo celular (GAVAZZO *et al.*, 2021).

Visto isso, as células-tronco mesenquimais indiferenciadas em sua avaliação microscópica, aparecem como fusiformes, alongadas e formando colônias, também chamadas de unidades formadoras de colônias, quando atingem uma maior confluência (WANG *et al.*, 2018), assim como demonstrado na Figura 1. Ao entrar alguma via de sinalização específica a partir de estímulos, que podem ser mecânicos, físicos ou químicos, ocorre uma série de modificações, sendo que as células

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

osteogênicas diferenciadas apresentam formato cuboide e estreladas, com tamanho maior e poligonal (ZHANG *et al.*, 2018), como demonstrado na Figura 2, podendo formar nódulos de mineralização que podem ser evidenciados por colorações especiais como o vermelho de alizarina GOMES e FERNANDES, 2007).

Figura 1 - Características morfológicas de CTM após cultivo em meio basal, demonstrando sua morfologia fusiforme (A) e a formação de unidades formadoras de colônias após crescerem até 90% de confluência (B).



Fonte: Whang *et al.*, 2018.

Figura 2 - Análise morfológica das células após indução osteogênica durante quatro semanas, coradas com Vermelho de Alizarina, sendo (A) ampliação de x40; (B) ampliação de x40 e (C) ampliação de x200.



Fonte: Zhang *et al.*, 2018.

Ainda nesse contexto, a ligação entre a morfologia e o estado de diferenciação está relacionado principalmente com as mudanças que ocorrem na organização do citoesqueleto. As CTMs indiferenciadas apresentam citoesqueleto de actina organizado como microfilamentos finos e paralelos que estão difusos pelo citoplasma, que conferem essa característica morfológica fibroblástica em forma de fuso. E assim, ao longo dos dias de diferenciação ocorre uma reorganização desses filamentos, aumentando a polimerização de actina para que sejam formados padrões maiores e cruzados de citoesqueleto, fornecendo a forma maior e cúbica para essas células, demonstrando assim que essas células estão em via de sinalização (GAVAZZO *et al.*, 2021).

Conclusão

A partir dos estudos demonstrados na revisão, fica evidente que as células-tronco mesenquimais apresentam grande potencial de uso na clínica devido suas singulares características de diferenciação e autorenovação, além do fato do seu alto poder de se diferenciar *in vitro* ser de suma importância para futuras pesquisas. Cabe ainda ressaltar, que a diferenciação dessas células na linhagem osteogênica consiste em um processo complexo e dinâmico, o qual seu entendimento é fundamental para que futuramente essas células possam ser usadas em alterações ósseas, sendo a morfologia um ponto essencial. Ademais, destaca-se que são necessários mais estudos sobre o tema na medicina veterinária, visto que a maior parte dos estudos utilizados na revisão eram referentes a medicina e odontologia humana.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Referências

- ALIEVI, A. L. **Avaliação do lisado de plasma rico em plaquetas canino como substituto do soro fetal bovino no cultivo de células-tronco derivadas do tecido adiposo canino.** 2021. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso II (Bacharel em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.
- ARBEX, M. S. *et al.* Obtenção e isolamento de células-tronco da medula óssea. **Cadernos UniFOA**, Volta redonda, v. 14, n. 39, p. 107-115, 2019.
- BARCELOS, J. G.; OLIVEIRA, R. J. Padronização da extração, cultivo e criopreservação das células-tronco mesenquimais do cordão umbilical. **Perspectivas Experimentais e Clínicas, Inovações Biomédicas e Educação em Saúde (PECIBES)**, v. 9, n. 1, p. 56-74, 2023. DOI: 10.55028/pecibes.v9i1.18369
- BARROS, P. L. **Plasticidade e características gerais das células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo humano coletado por lipoaspiração convencional e lipoaspiração por laser.** 2022. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.
- COELHO, H. R. S. **Efeitos de células tronco mesenquimais em pacientes com hipocontratibilidade detrusora.** 2022. 82f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2022.
- COSTA, B. M. B. *et al.* Efeito do laser de baixa potência na proliferação osteogênica de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical humano. **Res., Soc. Dev.**, v. 11, n. 2, p. 1-11, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.24921
- CUTIONGCO, M. F. A. *et al.* Predicting gene expression using morphological cell responses to nanotopography. **Nat. Commun.**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2020. DOI: 10.1038/s41467-020-15114-1
- GAVAZZO, P. *et al.* Biophysical phenotyping of mesenchymal stem cells along the osteogenic differentiation pathway. **Cell Biol. Toxicol.**, v. 37, n. 6, p. 915-933, 2021. DOI: 10.1007/s10565-020-09569-7
- GOMES, P. S.; FERNANDES, M. H. Effect of therapeutic levels of doxycycline and minocycline in the proliferation and differentiation of human bone marrow osteoblastic cells. **Arch. Oral Biol.**, v. 52, n. 3, p. 251-259, 2007. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2006.10.005
- HENAO, J. C. *et al.* TRPM8 channel promotes the osteogenic differentiation in human bone marrow mesenchymal stem cells. **Front. Cell Dev. Biol.**, v. 9, n. 592946, p. 1-13, 2021. DOI: 10.3389/fcell.2021.592946
- IBÁÑEZ, L. *et al.* Connection between Mesenchymal Stem Cells Therapy and Osteoclasts in Osteoarthritis. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 23, n. 4693, p. 1-21, 2022. DOI: 10.3390/ijms23094693
- MA, Q. *et al.* The role of Trithorax family regulating osteogenic and Chondrogenic differentiation in mesenchymal stem cells. **Cell Prolif.**, v. 55, n. 5, p. 1-12, 2022. DOI: 10.1111/cpr.13233
- MENDES, A. B. *et al.* Potencial terapêutico de células-tronco mesenquimais na laminite equina. **Res., Soc. Dev.**, v. 10, n. 10, p. 1-12, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i10.18780
- QUEIROZ, A. C. **Células-tronco do ligamento periodontal de ratos mobilizadas por TGFβ1 e G-CSF: avaliação *in vitro*.** 2020. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

RAMESH, T. Osteogenic differentiation potential of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhanced by bacoside-A. **Cell Biochem. Funct.**, v. 39, n. 1, p. 148-158, 2020. DOI: 10.1002/cbf.3596

SHAF AEI, H.; KALARESTAGHI, H. Adipose-derived stem cells: An appropriate selection for osteogenic differentiation. **J. Cell. Physiol.**, v. 235, n. 11, p. 8371-8386, 2020. DOI: 10.1002/jcp.29681

SHARIFI, S. *et al.* Phytochemicals impact on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. **BioFactors**, v. 46, n. 6, p. 874-893, 2020. DOI: 10.1002/biof.1682

TURA, B. B. **Melhora da regeneração óssea e cartilaginosa com uso de células-tronco mesenquimais em pacientes com fratura óssea ou osteoartrite.** 2022. 49f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2022.

VIDONI, C. *et al.* Autophagy drives osteogenic differentiation of human gingival mesenchymal stem cells. **Cell Commun. Signal**, v. 17, n. 1, p. 1-17, 2019. DOI: 10.1186/s12964-019-0414-7

WANG, X. *et al.* Melatonin promotes bone marrow mesenchymal stem cell osteogenic differentiation and prevents osteoporosis development through modulating circ_0003865 that sponges miR-3653-3p. **Stem Cell Res. Ther.**, v. 12, n. 1, p. 1-20, 2021. DOI: 10.1186/s13287-021-02224-w

YANG, L. *et al.* Wnt7a promotes the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. **Int. J. Mol. Med.**, v. 47, n. 6, p. 1-10, 2021. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4927

ZHANG, S. *et al.* Characteristics and multi-lineage differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells derived from the Tibetan mastiff. **Mol. Med. Rep.**, v. 18, n. 2, p. 2097-2109, 2018. DOI: 10.3892/mmr.2018.9172

ZHANG, Y. *et al.* Controlled osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells using dexamethasone-loaded light-responsive microgels. **ACS Appl. Mater. Interfaces**, v. 13, n. 6, p. 7051-7059, 2021. DOI: 10.1021/acsami.0c17664

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), do Laboratório Multiusuário de Experimentação e do Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da UFES.