

# EFEITOS ANGIOGÊNICO E OSTEOGÊNICO DA BMP-9 EM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS DE MEDULA ÓSSEA E DO TECIDO ADIPOSEO

Gomes MPO\*, Lima J, Lopes HB, Rosa AL

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

maria.paula.gomes@usp.br

## Objetivos

Dentre as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), a BMP-9 foi descrita como a de maior potencial osteogênico, além de apresentar potencial angiogênico<sup>1</sup>. O objetivo deste estudo foi determinar *in vitro* a concentração adequada de BMP-9 para favorecer os potenciais angiogênico e osteogênico de células-tronco mesenquimais (do Inglês, mesenchymal stem cells – MSCs) de medula óssea (BM-MSc) e de tecido adiposo (AT-MSc).

## Métodos e Procedimentos

BM-MSc e AT-MSc obtidas de ratos machos Wistar, foram cultivadas em meio de cultura suplementado com BMP-9 (0, 25, 50 e 100 ng/mL) por 7 dias e a expressão dos genes *Cd34* (do Inglês, cluster of differentiation 34), receptor do fator de crescimento endotelial vascular (*Vgfr2*), fator de von Willebrand (*Vwf*), fator de transcrição relacionado ao runt 2 (*Runx2*), fosfatase alcalina (*Alp*) e osteocalcina (*Oc*) foi avaliada por PCR em tempo real. Os dados foram comparados por One-way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey quando necessário. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## Resultados

Nas culturas de BM-MSc a expressão de *Alp*, *Oc* e de *Cd34* foi maior na concentração de 100 ng/mL e a expressão de *Vgfr2* foi maior nas concentrações de 50 e 100 ng/mL ( $p < 0,001$  para todos os genes). A expressão de *Runx2* foi diminuída pelas concentrações de 25 e 50 ng/mL, mas a de *Vwf* não foi alterada pela BMP-9 ( $p > 0,05$ ). Nas AT-MSc a expressão de *Runx2* e de *Vwf* foi maior na concentração de 100 ng/mL, a de *Alp*, *Oc* e *Vgfr2* foi maior para todas as concentrações de BMP-9, a de *Cd34* foi maior na concentração de 25 ng/mL. (Tabela 1).

**Tabela 1.** Expressão gênica aos 7 dias em BM-MSc e AT-MSc com 0, 25, 50 e 100 ng/mL de BMP-9.

Gene	Concentração BMP-9 (ng/mL)	BM-MSc (média ± DP)	AT-MSc (média ± DP)
<i>Cd34</i>	0	1,001 ± 0,056 <sup>a</sup>	1,000 ± 0,012 <sup>a</sup>
	25	7,442 ± 0,050 <sup>b</sup>	1,075 ± 0,044 <sup>b</sup>
	50	3,757 ± 0,019 <sup>c</sup>	0,552 ± 0,015 <sup>c</sup>
	100	9,316 ± 1,330 <sup>d</sup>	0,810 ± 0,011 <sup>d</sup>
<i>Vgfr2</i>	0	1,000 ± 0,001 <sup>a</sup>	1,000 ± 0,007 <sup>a</sup>
	25	6,361 ± 0,230 <sup>b</sup>	12,110 ± 0,391 <sup>b</sup>
	50	7,614 ± 0,632 <sup>c</sup>	15,852 ± 0,148 <sup>c</sup>
	100	6,819 ± 0,418 <sup>b,c</sup>	13,554 ± 0,012 <sup>d</sup>
<i>Vwf</i>	0	1,002 ± 0,078 <sup>a</sup>	1,004 ± 0,107 <sup>a</sup>
	25	0,826 ± 0,123 <sup>a</sup>	1,165 ± 0,044 <sup>a,c</sup>
	50	0,731 ± 0,019 <sup>a</sup>	0,756 ± 0,039 <sup>b</sup>
	100	0,767 ± 0,228 <sup>a</sup>	1,298 ± 0,093 <sup>c</sup>
<i>Runx2</i>	0	1,001 ± 0,034 <sup>a</sup>	1,000 ± 0,036 <sup>a,c</sup>
	25	0,870 ± 0,037 <sup>b</sup>	0,946 ± 0,044 <sup>a</sup>
	50	0,859 ± 0,028 <sup>b</sup>	0,825 ± 0,041 <sup>b</sup>
	100	0,995 ± 0,045 <sup>a</sup>	1,074 ± 0,023 <sup>c</sup>
<i>Alp</i>	0	1,000 ± 0,028 <sup>a</sup>	1,000 ± 0,028 <sup>a</sup>
	25	1,908 ± 0,027 <sup>b</sup>	33,183 ± 0,131 <sup>b</sup>
	50	2,046 ± 0,011 <sup>c</sup>	36,188 ± 1,650 <sup>c</sup>
	100	2,868 ± 0,052 <sup>d</sup>	38,874 ± 1,290 <sup>c</sup>
<i>Oc</i>	0	1,000 ± 0,041 <sup>a</sup>	1,017 ± 0,226 <sup>a</sup>
	25	0,931 ± 0,019 <sup>a</sup>	2,219 ± 0,323 <sup>b</sup>
	50	1,158 ± 0,045 <sup>b</sup>	2,057 ± 0,096 <sup>b</sup>
	100	1,519 ± 0,005 <sup>c</sup>	2,264 ± 0,016 <sup>b</sup>

Os dados estão representados como média ± desvio padrão (n=3). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ).

## Conclusão

Em ambas as MSC a BMP-9 induziu diferenciação angiogênica e osteogênica, comprovadas pelo aumento na expressão dos genes *Cd34*, *Vgfr2* e *Vwf* (marcadores angiogênicos) e *Runx2*, *Alp* e *Oc* (marcadores osteogênicos) sendo, em geral, a concentração de 100 ng/mL a mais eficaz. Portanto, essa concentração será selecionada para investigações futuras envolvendo diferenciação osteoblástica.

## Referência Bibliográfica

1. Beederman et al. BMP signaling in mesenchymal stem cell differentiation and bone formation. J Biomed Sci Eng. 2013;6:32-52.