

Regulação epigenética em genes marcadores de diferenciação osteogênica, em células multipotentes do ligamento periodontal com diferentes potenciais osteogênicos.

Francesca Racca*, Rahyza I. F. Assis, Karina G. S Ruiz, Enilson A. Sallum, Francisco H. Nociti-Júnior, Denise C. Andia

Resumo

Células multipotentes do ligamento periodontal de humanos (PDLSCs) podem dar origem ao tecido ósseo e são candidatas promissoras ao reparo periodontal e em terapias regenerativas em doenças ósseas. No entanto, algumas PDLSCs apresentam diferentes potenciais osteogênicos, o que pode estar relacionado à baixa previsibilidade e alta variação em resultados de regeneração óssea. O fenótipo celular é determinado por mecanismos, entre eles destacam-se a regulação de genes linhagem-específica, marcadores de multipotencialidade e mecanismos epigenéticos. Porém, esses mecanismos não estão completamente elucidados e ainda não se sabe as razões biológicas para que PDLSCs apresentem potenciais osteogênicos distintos. Portanto, para a aplicação segura das PDLSCs em ensaios clínicos futuros, é preciso melhor entender a osteogênese nestas células. O objetivo foi produzir resultados que preenchessem lacunas no conhecimento da diferenciação osteogênica, avaliando o impacto da osteogênese em marcadores de multipotencialidade e de linhagem específica, em PDLSCs com potenciais osteogênicos distintos.

Palavras-chave:

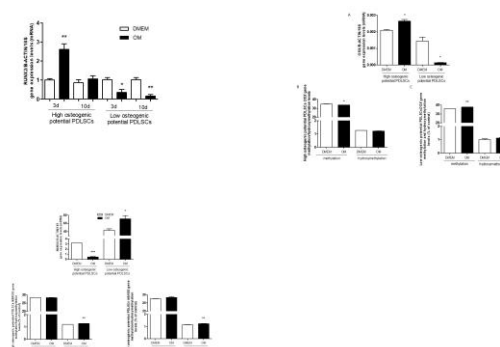
epigenética, células mesenquimais, diferenciação osteogênica

Introdução

As PDLSCs podem auxiliar no reparo periodontal ou em doenças ósseas, pois são células mesenquimais com capacidade de mudança de fenótipo e formação de tecido ósseo. Não se sabe as razões biológicas para que apresentem potenciais osteogênicos distintos. Epigenética explica como mudanças no ambiente celular modificam a expressão gênica, contribuindo para o entendimento da osteogênese. O objetivo foi preencher lacunas no conhecimento da diferenciação osteogênica, investigando o impacto da osteogênese em marcadores de multipotencialidade e de linhagem específica, em PDLSCs com potenciais osteogênicos distintos.

Resultados e Discussão

Duas populações de PDLSCs, com diferentes potenciais osteogênicos, foram obtidas (ligamento periodontal humano de 3º molares - 18 a 20 anos) e caracterizadas (indiferenciação, multipotencialidade e proliferação). Foram avaliados os perfis transcricionais e epigenéticos do marcador de multipotencialidade (*NANOG*) e osteogênicos (*RUNX2* e *OSX*), após 3 e 10 dias de indução osteogênica. DNA e RNA foram extraídos e purificados. Para as análises epigenéticas os DNAs foram tratados com T4-BGT, *MspI* e *HpaII* e as análises de expressão gênica foram realizadas a partir do cDNA. As amostras foram submetidas à quantificação por PCR em tempo real. A osteogênese promoveu alterações opostas quando as PDLSCs foram comparadas. As PDLSCs com alto potencial osteogênico corroboram os dados da literatura, porém as PDLSCs com baixo potencial osteogênico permanecem com elevados níveis de transcritos para o marcador de multipotencialidade *NANOG* e apresentam baixos níveis de expressão gênica para os fatores de transcrição osteogênicos *RUNX2* e *OSX*.



*, **, *** indicam, respectivamente, $p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$ e $p \leq 0.0001$ (TesteT).

Conclusões

A diferenciação osteogênica teve impacto na modulação de marcadores de multipotencialidade e osteogênese e essa modulação pode estar relacionada a diferentes potenciais osteogênicos. As mudanças foram antagônicas entre as populações celulares, ainda que ambas tenham sido provenientes de ligamentos periodontais.

Agradecimentos

PIBIC, FAPESP 2013/09650-8 e 2017/07944-5.

¹ Barros S, Offenbacher S. Modifiable risk factors in periodontal disease: epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response. *Periodontology* 2000. 2014; 95-110

² Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahimi J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004;364(9429):149-155.