



IV ENCONTRO INTERNACIONAL DE BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE HUMANA E ANIMAL:

AVANÇOS E TENDÊNCIAS BIOTECNOLÓGICAS PARA SAÚDE HUMANA E ANIMAL

UTILIZAÇÃO DO MEIO CONDICIONADO DAS CÉLULAS MESENQUIMAIS DERIVADAS DA GELÉIA DE WHARTON COMO FERRAMENTA PARA MAXIMIZAR O POTENCIAL REPRODUTIVO

Hyandra Emilly Oliveira Santos Saboia¹, Camila Maria Araújo de Aguiar¹, Alesandro Silva Ferreira², Sara Rany Alexandre Bittencourt³, João Eudes Farias Cavalcante Filho⁴, Solano Dantas Martins⁵, Maria Alice Felipe Oliveira⁵, Valdevane Rocha Araújo⁶

¹Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas (PPGCF) da Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza-CE; ²Graduando em Farmácia pela Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), Redenção – CE; ³Graduanda em Ciências Biológicas pela UECE, Fortaleza – CE; ⁴Doutorando do Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) da UECE, Fortaleza, CE; ⁵Mestrando do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (PPGB) da Universidade Federal do Ceará (UFC), Sobral – CE; ⁶Docente do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal Delta do Parnaíba (UFDPa), Parnaíba – PI, do PPGCF – UECE, Fortaleza – CE e do PPGB/UFC, Sobral-CE.
hyandra.emilly@aluno.uece.br

RESUMO

As células tronco mesenquimais derivadas da geleia de Wharton (CTMs-GW) possuem alto poder de proliferação e diferenciação. Fisiologicamente, os ovários e os testículos são as gônadas responsáveis pela formação e maturação dos gametas sexuais, os oócitos e os espermatozoides; logo, manter a funcionalidade dessas estruturas é essencial para garantia do potencial fértil do indivíduo. Tendo em vista que o cultivo *in vitro* pode mimetizar os ambientes *in vivo*, este torna-se uma alternativa promissora para proposições de tratamento na crescente problemática da infertilidade. O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica que selecionou 11 artigos publicados em inglês nas bases PubMed e Scielo. Como resultados, no tocante à fisiologia reprodutiva foi observado que as CTMs-GW co-cultivadas com folículos ovarianos ou com espermatogônias melhoram o crescimento folicular e reduzem a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), respectivamente. Tais aspectos podem ser utilizados para explorar os mecanismos que controlam a diferenciação destas células, sendo potencialmente importantes para uso em terapias de infertilidade, uma vez que as CTMs-GW mimetizam um microambiente para colonização de células germinativas sem qualquer manipulação artificial *in vitro*. Além disso, seu alto potencial proliferativo e de diferenciação celular tem sido o responsável pelos inúmeros benefícios já documentados. No entanto, a evidente escassez de trabalhos acerca da sua aplicabilidade na área da reprodução torna necessário mais estudos comprobatórios da sua eficiência para utilização em tratamentos de infertilidade.

PALAVRAS-CHAVES: Geléia de Wharton; *In vitro*; Reprodução.

1 INTRODUÇÃO

A infertilidade é definida como uma condição reprodutiva que impede uma concepção intencional após, pelo menos, 12 meses de relações sexuais regulares desprotegidas (OMS, 2018). esse impedimento pode estar relacionado a problemas de saúde que interfiram diretamente no processo de maturação dos gametas que ocorre no interior das gônadas. Dessa forma, evidencia-se a necessidade de alternativas que proporcionem uma maior conservação estrutural desses gametas e tecidos reprodutivos. Por conseguinte, os sistemas de cultivo *in vitro* surgem como uma alternativa para essa problemática, em razão de mimetizar o ambiente *in vivo* de maneira controlada e asséptica, possibilitando a manutenção da viabilidade celular.

Considerando o abordado, a produção de meios condicionados para cultivo *in vitro* oriundos de células somáticas apresenta-se como uma opção promissora, pois as células podem produzir e liberar várias citocinas e fatores de crescimento, cujos efeitos imunomoduladores, anti-apoptóticos podem estimular a regeneração celular (BEZERRA *et al.*, 2019). Um exemplo dessas células somáticas são as células tronco mesenquimais derivadas da geleia de Wharton (CTMs-GW) que estão localizadas no cordão umbilical de mamíferos e têm sido amplamente utilizadas em diversas pesquisas científicas devido seu fácil e indolor acesso, seu alto poder de proliferação, diferenciação e por não serem teratogênicas e carcinogênicas.

Dessa forma, a utilização de um meio condicionado à base de células mesenquimais tem se mostrado bastante efetivo, uma vez que essas células secretam citocinas e fatores de crescimento, sendo, portanto, uma fonte excelente e barata de fatores bioativos para potencializar o desenvolvimento *in vitro* (BEZERRA *et al.*, 2019).

2 OBJETIVO

Analisar a possível aplicabilidade para utilização das células mesenquimais derivadas da geleia de Wharton na área da reprodução.

3 MATERIAIS E MÉTODO

O presente estudo consiste em uma revisão bibliográfica com análise qualitativa, cujos critérios de inclusão foram: artigos publicados nos últimos 10 anos (entre 2013 a 2023), em idioma inglês e disponíveis gratuitamente nas bases de dados PubMed e Scielo. Foram excluídos trabalhos publicados antes de 2013 e/ou escritos em idioma diferente do inglês. As palavras-chave utilizadas foram: wharton Jelly, In vitro, reproduction. Foram identificados 69 artigos que atendiam aos critérios estabelecidos e após remoção das duplicatas e leitura de títulos foram selecionados 19 artigos. Desses, 8 foram excluídos após leitura do resumo, resultando em 11 trabalhos para leitura integral e análise qualitativa.

4 RESULTADOS

O cordão umbilical de mamíferos têm sido uma fonte importante para o isolamento de células tronco mesenquimais a serem utilizadas em pesquisas científicas. Subramanian *et al.* (2015) verificaram o isolamento celular de cinco regiões do cordão umbilical, essas regiões foram, a região da Geleia de Wharton (GW), a área perivascular, o subâmnio, o âmnio e uma região de cordão misto. Nessas avaliações, observou-se que as células isoladas da GW são menos contaminadas com outras células somáticas após isolamento e apresentam um alto poder proliferativo, aumentando em número sem alterar seu fenótipo, permitindo fácil padronização. Estas células podem se diferenciar em linhagens osteogênicas, adipogênicas, condrogênicas (SOMAL *et al.* 2016; LANGE-CONSIGLIO *et al.*, 2017; RANJABARAN *et al.*, 2018), neurogênicas (LANGE-CONSIGLIO *et al.*, 2017) e em células do endoderma (Al *et al.*, 2016). Além disso, as CTMs-GW são mais adequadas para utilização terapêutica, uma vez que o maior potencial proliferativo e de diferenciação em células T induz um efeito imunossupressor mais proeminente que o observado quando utilizadas células mesenquimais oriundas da medula óssea humana, do tecido adiposo e da placenta (LI *et al.*, 2014). Tais características são importantes, pois trazem perspectivas futuras de pesquisa e aplicações clínicas, com destaque principalmente no campo da engenharia de tecidos para produção *in vitro* e *in vivo* de uma variedade de tecidos projetados para transplantes (LIAU *et al.*, 2020), reduzindo, conseqüentemente, as chances de rejeição.

No tocante a fisiologia reprodutiva, a utilização de células tronco mesenquimais tem sido uma alternativa promissora para minimizar alguns problemas de infertilidade em homens e mulheres. Recentemente, Fayezi *et al.* (2022) demonstraram que células germinativas primordiais (CGPs) podem ser produzidas a partir da diferenciação de células tronco mesenquimais. Tendo em vista que as CGPs possuem capacidade de se diferenciar em gametas masculinos ou femininos, o desenvolvimento de protocolos que permitam o isolamento e diferenciação de CM em CGPs tem encorajado os pesquisadores da área. Em 2015, células germinativas masculinas semelhantes a células de Sertoli foram produzidas a partir de um sistema de co-cultivo com CTMs-GW (XIE *et al.*, 2015). Maldonado *et al.* (2018) e Bezerra *et al.* (2019) demonstraram a melhora nas taxas de retomada da meiose e de crescimento de folículos secundários com redução da geração de ROS, respectivamente, após co-cultivo com CTMs-GW. Esses achados podem ser devido as interações parácrinas durante o co-cultivo (Maldonado *et al.*, 2018), bem como ao fato de o padrão de cariotipagem das células mesenquimais não se alterar após cultivo *in vitro*, potencializando a possibilidade de produção de gametas para o tratamento de pacientes inférteis ou subférteis (KAVIANI *et al.*, 2014). Além disso, podem ser usados para explorar os mecanismos que controlam o processo de diferenciação celular, tornando importante aliado na terapia da infertilidade (BEZERRA *et al.*, 2019).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As diferentes características demonstradas das células-tronco mesenquimais derivadas da geleia de Wharton conferem-nas uma ampla aplicabilidade terapêutica e destacam seus efeitos benéficos para o cultivo *in vitro*, como a redução do estresse oxidativo, manutenção estrutural e nutricional no meio de cultivo através da liberação fatores parácrinos importantes para cultura celular. No entanto, são escassos os trabalhos referentes à sua utilização na área da reprodução, evidenciando a necessidade de estudos acerca da incorporação dessa linhagem celular no tratamento da infertilidade masculina.

REFERÊNCIAS

- AL, MADHOUN. A.; ALI, H.; ALKANDARI, S.; ATIZADO, V.L.; AKHTER, N.; AL-MULLA, F.; ATARI, M. Defined three-dimensional culture conditions mediate efficient induction of definitive endoderm lineage from human umbilical cord Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Stem Cell Research & Therapy*. Kuwait, v. 7, n. 165, 11p. 2016.
- BEZERRA, M.É.S.; MONTE, A.P.O.; BARBERINO, R.S.; LINS, T.L.B.G.; OLIVEIRA JUNIOR, J.L.; SANTOS, J.M.S.; BEZERRA DO NEVE, C.A.; SILVA, G.C.; CARVALHO, M.A.M.; MATOS, M.H.T. Conditioned medium of ovine Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells improves growth and reduces ROS generation of isolated secondary follicles after short-term in vitro culture. *Theriogenology*. Brazil, v.125, p 56-63. 2019.
- FAYEZI, S.; FAYYAZPOUR, P.; NOROUZI, Z.; MEHDIZADEH, A. Strategies for Mammalian Mesenchymal Stem Cells Differentiation into Primordial Germ Cell-Like Cells: A Review. *Cell Journal*. Iran, v. 24, n. 8, p. 434-441. 2022.
- KAVIANI, M.; EZZATABADIPOUR, M.; NEMATOLLAHI-MAHANI, SN.; SALEHINEJAD, P.; MOHAMMADI, M.; KALANTAR, SM.; MOTAMEDI, B. Evaluation of gametogenic potential of vitrified human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal cells. *Cytotherapy*. Iran, v. 16, n. 2, p. 203 – 212. 2014.
- LANGE-CONSIGLIO, A.; PERRINI, C.; BERTERO, A.; ESPOSTI, P.; CREMONESI, F.; VINCENTI, L. Isolation, molecular characterization, and in vitro differentiation of bovine Wharton jelly-derived multipotent mesenchymal cells. *Theriogenology*. Italy, v. 89, p. 338 – 347. 2017.
- LI, X.; BAI, J.; JI, X.; LI, R.; XUAN, Y.; WANG, Y. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *International Journal of Molecular Medicine*. China, v. 34, n. 3, p. 695-704. 2014.
- LIAU, L.L.; RUSZYMAH, B.H.I.; NG, M.H.; LAW, J.X. Characteristics and clinical applications of Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal cells. *Current Research in Translational Medicine*, Malaysia, v. 68, p 5-16. 2020.
- MALDONADO, M.; HUANG, T.; CHEN, J.; ZHONG, Y. Differentiation Potential of Human Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells and Paracrine Signaling Interaction Contribute to Improve the In Vitro Maturation of Mouse Cumulus Oocyte Complexes. *Stem Cells International*. China, v. 2018, 8p. 2018.
- RANJBARAN, H.; ABEDIANKENARI, S.; MOHAMMADI, M.; KHALILIAN, A.; RAHMANI, Z.; MOMENINEZHAD AMIRI, M.; EBRAHIMI, P. Mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly: isolation and characterization. *Acta Medica Iranica*. Iran, v. 56, n. 1, p. 28 – 33. 2018.
- SUBRAMANIAN, A.; BISWAS, A.; BONGSO, A. Comparative Characterization of Cells from the Various Compartments of the Human Umbilical Cord Shows that the Wharton's Jelly Compartment Provides the Best Source of Clinically Utilizable Mesenchymal Stem Cells. *PLoS One*. 2015.
- XIE, L.; LIN, L.; TANG, Q.; LI, W.; HUANG, T.; HUO, X.; LIU, X.; JIANG, J.; HE, G.; MA, L. Sertoli cell-mediated differentiation of male germ cell-like cells from human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells in an in vitro co-culture system. *European Journal of Medical Research*, China, v.20, 10p. 2015.