

RESUMO

Objetivo: Avaliar a eficácia do uso de nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro conjugadas com o fluoróforo com comprimento de onda no infravermelho com absorção/emissão de 755/777nm (NM-755) como agente de marcação em células tronco mesenquimais (CTM) de medula óssea (MO) que expressam luciferase/bioluminescência (CTM-Luci) para monitoramento de transplante de células in vivo em modelo de acidente vascular cerebral (AVC), com perspectiva futura de aplicação de rastreamento terapêutico de transplante de CTM. **Métodos:** Para tanto, foram isoladas CTM de MO de voluntário sadios que foram modificadas para expressar luciferase/bioluminescência. Foram realizadas avaliações de caracterização imunofenotípica e diferenciação celular (osteócito e adipócito) após a indução da expressão de luciferase/bioluminescência. Para o processo de marcação das CTM-Luci, foram testadas diferentes concentrações de NM-755. A análise do perfil de marcação celular foi realizada por meio da avaliação da fluorescência, manutenção de bioluminescência após marcação e coloração de Azul da Prússia. Para avaliar a toxicidade, foi teste de viabilidade e morte celular por com Iodeto de Propídio e Anexina V. Após o estabelecimento da melhor condição de marcação, foi realizado um piloto para avaliar os aspectos técnicos de detecção de bioluminescência, fluorescência in vivo e ex vivo por imagem de fluorescência e IRM. Em seguida estudos em modelo animal de AVC avaliaram o potencial de detecção de CTM-luci marcadas com NM-755 in vivo por bioluminescência e fluorescência e ex vivo por fluorescência e IRM de 3 Tesla na área lesada, visando o rastreamento de terapia celular. **Resultados:** Inicialmente, o isolamento e a indução de expressão de luciferase na CTM de MO não causou modificação no comportamento imunofenotípico e nem na capacidade de diferenciação. A marcação é eficiente para expressão de bioluminescência a partir de 5µg/mL de NM-RHOD-755 para marcação, com sinal máximo in vitro com marcações com 50µg/mL de NM-RHOD-755. Por meio da coloração de azul da Prússia foi observado que as NM-RHOD-755. Além disso, o ensaio de citotoxicidade evidenciou que a morte celular causada por NM-755 é mínima. O monitoramento in vivo por bioluminescência e fluorescência e ex vivo por fluorescência e IRM de 3 Tesla na área lesada foi eficaz. Além disso, quando a administração foi feita via local em modelo de AVC focal, a CTM-luci marcadas com NM-755 foram detectadas por bioluminescência e fluorescência logo após a administração em até 5 dias por bioluminescência e fluorescência e IRM sem perda de contraste. **Conclusão:** Diante do conjunto de resultados, demonstra-se a eficiência da utilização de NM-755 com agente de marcação de CTM-Luci. Os resultados in vitro e in vivo comprovam o alto potencial de rastreamento de terapia com CTM-Luci, por meio da expressão de bioluminescência, detecção por fluorescência e como agente de contraste por IRM, sem causar prejuízo a viabilidade celular, sendo esta uma promissora estratégia para futuras aplicações de monitoramento de migração de CTM em terapia celular.