



Senescência das células-tronco mesenquimais para proposta terapêutica

The senescence of mesenchymal stem cells for a therapeutic proposal

Aléxia Lucindo Serafim^{1*}, Karoline Santos Oliveira Silva¹, Adriana Bozzi^{1,2*}

¹Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC, Ilhéus, Bahia, Brasil

²Faculdade Santo Agostinho de Itabuna, FASAI, Itabuna, Bahia, Brasil

*Autor correspondente: Adriana Bozzi, Msc, PhD – adriana.bozzi@gmail.com, Departamento de Medicina, FASAI, Av. Ibicaraí, 3270 - Nova Itabuna, Itabuna - BA, 45600-769.

RESUMO

As CTM ganharam atenção significativa no campo da pesquisa por serem promissoras na terapêutica de diversas patologias, tanto na clínica humana quanto veterinária. Este cenário deve-se, principalmente, à plasticidade funcional dessas células como agente regenerativo e moduladoras do sistema imune, o que as tornam excelentes candidatas para a resolução da inflamação. A senescência celular caracteriza o envelhecimento da célula com diminuição de sua proliferação e atividades biológicas. A expansão *in vitro* das CTM pode acelerar esse processo e diminuir a sua capacidade de multiplicação e potencial de diferenciação em outros tipos celulares, tornando-as inviáveis para as propostas terapêuticas. Neste contexto, este artigo traz uma revisão narrativa sobre a importância da avaliação da senescência das CTM e sua influência nos diversos processos biológicos.

Palavras-chave: Células-tronco mesenquimais; tecido adiposo; senescência celular; terapêutica celular.

ABSTRACT

MSCs have gained significant attention in the field of research for being promising in the treatment of various pathologies, both in human and veterinary clinics. This scenario is mainly due to the functional plasticity of these cells as a regenerative agent and modulators of the immune system, which makes them excellent candidates for the resolution of inflammation. Cellular senescence characterizes the aging of the cell with a decrease in its proliferation and biological activities. The *in vitro* expansion of MSCs can accelerate this process and reduce their ability to multiply and differentiate into other cell types, making them unfeasible for therapeutic proposals. In this context, this article presents a narrative review on the importance of MSC senescence assessment and its influence on different biological processes.

Keywords: Mesenchymal stem cells; adipose tissue; cellular senescence; cell therapy.

Introdução

Diversos estudos em modelos clínicos e pré-clínicos humanos têm sugerido as células-tronco mesenquimais (CTM) para o reparo de lesões, controle da resposta inflamatória decorrente de desordens imunológicas, transplantes, doenças infecciosas e parasitárias (LEE *et al.*, 2009; LE BLANC *et al.*, 2004). Isto devido ao seu potencial proliferativo, multipotente, parácrino e imunomodulador (SHARMA *et al.*, 2014; PETRIE ARONIN *et al.*, 2010). Desta forma, as CTM são candidatas para o tratamento de uma ampla gama de doenças como diabetes mellitus, esclerose múltipla, infarto do miocárdio, insuficiência hepática, doença do enxerto contra o hospedeiro, doença de crohn, entre muitas outras (PATEL, 2013).

Semelhante a outros tipos celulares, as CTM passam por uma quantidade limitada de divisões celulares, processo conhecido como senescência celular (HAYFLICK,1965). Estudos já comprovaram que quanto mais senescentes as CTM, menor o seu desempenho quando comparadas com as CTM mais jovens, influenciando o processo de expansão e excreção de fatores tróficos, neovascularização, e sua capacidade de migração. (SOTIROPOULOU *etal.*,2006; DUGGAL *et al.*,2011). Por isso, em uma cultura de células é importante avaliar a senescência, pois ela pode implicar no resultado terapêutico almejado. Neste contexto, este artigo traz uma revisão narrativa sobre a senescência das CTM do tecido adiposo, abordando desde a

caracterização celular senescente até a influência nos diversos processos biológicos.

Aspectos gerais das células-tronco mesenquimais

As CTM são conhecidas como uma população heterogênea de células multipotentes, formam colônias e podem se diferenciar em células de linhagem mesenquimal como osteoblastos, adipoblastos e condroblastos (UCCELLI, MORETTA & PISTOIA, 2008). Podem ser obtidas de diversas fontes, como o cordão umbilical, tecido adiposo, polpa dentária, sangue periférico, tecido sinovial e medula óssea, por exemplo. Apesar da medula óssea ser a fonte mais estudada e utilizada, o tecido adiposo vem se destacando como fonte de obtenção das CTM por apresentar maior disponibilidade tecidual e facilidade de coleta, sendo menos invasivo por ser coletado em paralelo a outros procedimentos, como cirurgias eletivas e de estética. Esse tecido pode ser obtido facilmente e em grande quantidade a partir de lipoaspiração de diversas regiões do corpo como abdômen, partes internas da coxa e dos glúteos. Além disso, possui a capacidade de manter seu potencial proliferativo por até dez passagens sem que ocorra impacto na sua capacidade de renovação ou grandes perdas de material. Por essas características e por seu rendimento ser 40 vezes maior que o da medula óssea, o tecido adiposo é uma excelente fonte para a coleta de CTM (ZUTTON, 2013).

A Sociedade Internacional de Terapia Celular (ISCT) estabeleceu algumas normas para a caracterização das CTM nos estudos *in vitro*. Dessa forma, as CTM devem apresentar a capacidade de aderir ao plástico da plataforma de cultura, alta expressão (>90%) de marcadores mesenquimais, como CD73, CD90 e CD105, e baixa expressão (<1 a 2%) de marcadores hematopoiéticos como na ausência de CD34, CD45 e marcadores de linfócitos B típicos, monócitos e macrófagos (BAJEK, 2012). Além disso, elas devem apresentar alta capacidade de proliferação e diferenciação osteogênica, condrogênica e adipogênica (Arzi et al. 2017; Borjesson e Peroni 2011; Dominici et al. 2006).

O perfil imunológico das CTM revela a baixa expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) de classe I. Além disso, elas

não expressam antígenos do MHC de classe II e as moléculas co-estimulatórias CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), CD40 ou CD40 ligante, na presença ou ausência de interferon gama (IFN- γ), uma das mais potentes citocinas inflamatórias conhecidas. Essas características indicam que as CTM são células imuno-privilegiadas, capazes de sobreviver em receptores de transplante alogênico imunologicamente incompatível. A baixa imunogenicidade aliada ao potencial regenerativo torna as CTM candidatas ideais para a terapia celular (AGGARWAL et al., 2005; UCCELLI, MORETTA & PISTOIA, 2008).

As CTM são excelentes candidatas para o controle da inflamação caracterizada por níveis elevados de IFN- γ , IL-1 e TNF- α , decorrentes de distúrbios imunológicos, transplantes e várias outras doenças em humanos e animais. Interagem com células do sistema imune inato e adaptativo levando à modulação de diversas funções efetoras e, conseqüentemente, controlando a resposta inflamatória (AGGARWAL et al., 2005; UCCELLI, MORETTA & PISTOIA, 2008; CAPLAN, 2009). As CTM expressam muitas moléculas bioativas como as moléculas de adesão, as proteínas de matriz extracelular, as citocinas e os receptores para fatores de crescimento, permitindo interações com demais células. Levando em consideração a sua localização perivascular em vários tecidos, presume-se que as CTM migram para o local afetado e sinalizam os danos teciduais atraindo outros tipos celulares. Essa sinalização parácrina promove alterações em células imunes, que acabam interferindo em processos biológicos como proliferação e diferenciação de células, angiogênese e cicatrização tecidual (VOGA *et al.*, 2020).

Acredita-se que quando as CTM migram da medula óssea vermelha ou de outros sítios para as regiões danificadas, liberam uma variedade de fatores de crescimento como o fator de crescimento epidermal (EGF), o fator de crescimento para fibroblasto (FGF), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento transformante- (TGF-), o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o fator 1 de crescimento insulina-like (IGF-1), a angiopoetina-1 e o fator-1 derivado de células estromais (SDF-1), onde todos podem influenciar no desenvolvimento de fibroblastos e células

endoteliais. Este pode ser o mecanismo fundamental utilizado pelas CTM para acelerar o reparo de todos os tipos de danos. Além disso, as CTM desaparecem rapidamente após a entrada nos tecidos lesados e a diferenciação em tipos celulares defeituosos é um evento raro nas injúrias, como infarto do miocárdio e queda renal aguda (TOGEL *et al.*, 2014).

Estudos contemporâneos vêm sendo realizados, descrevendo a utilização alógena e autógena das CTM para a reparação de diversos tecidos. A grande aplicação em medicina veterinária deve-se à geração de modelos experimentais aplicáveis em paciente humanos. No campo da medicina regenerativa, muitas pesquisas básicas e estudos pré-clínicos são conduzidos com o uso de CTM. Por meio dessa população celular, pesquisadores têm explorado a segurança e eficácia de CTM injetadas em diferentes modelos animais. Da mesma forma, dados pré-clínicos e ensaios clínicos em andamento são iniciados em vários campos da medicina e têm sugerido um potencial das CTM para o tratamento de lesões (LE BLANC *et al.*, 2004).

Senescência celular

A senescência é um mecanismo de interrupção do ciclo celular, com a parada da proliferação das células que realizaram o limite máximo de duplicações possíveis de acordo com seu telômero. Existem diferentes tipos de senescência, como a replicativa, induzida por estresse, induzida por oncogenes e programada. A senescência replicativa é caracterizada por telômeros curtos e influenciada pela ativação do locus *CDKN2A* que codifica o supressor tumoral *p16* responsável por inibir a *CDK4* e *CDK6*. A senescência induzida por estresse está relacionada a altos níveis intracelulares de espécies reativas de oxigênio (ROS) e é consequência da cascata *RAS-RAFMEK-ERK* que ativa a *p38 MAPK* e leva ao aumento da atividade transcricional de *p53* e regulação positiva de *p21*. A senescência induzida por oncogenes é marcada pela ativação do locus *CDKN2A15* que leva à replicação anormal do DNA. Enquanto a senescência programada pelo desenvolvimento é normal e necessária para a formação de alguns órgãos característicos dos seres humanos, como o

fechamento do tubo neural e a formação da vesícula biliar durante o desenvolvimento embrionário (MUÑOZ-ESPÍN, 2014).

Os telômeros são regiões repetitivas nas extremidades dos cromossomos que protegem o DNA contra enzimas de reparo durante o ciclo celular. As células somáticas iniciam a vida embrionária com o telômero intacto. Mas, ao decorrer das divisões celulares os telômeros se desgastam e a telomerase – enzima que alonga o DNA através da adição de novos nucleotídeos - se torna incapaz de acompanhar a síntese do material genético. Dessa forma, as células ativam a resposta a lesões no DNA, provocando sua retirada permanente do ciclo celular, interrompendo sua proliferação.

Vários fatores intrínsecos, como o tempo de vida geneticamente programado, ou extrínsecos como o acúmulo de danos causados pela radiação, tem como consequência mudanças fenotípicas e funcionais graduais nas células. Essas alterações podem ter como consequência a senescência - caracterizado pela parada prolongada, e por vezes irreversível, do ciclo celular. E, mesmo possuindo características, como o encurtamento dos telômeros, ainda não existem métodos muito eficientes para analisá-las (BAJEK, 2012).

Uma das características das células senescentes é que elas sofrem alterações fenotípicas distintas devido a presença de fatores de secreção associados à senescência (SASP). Essa secreção está relacionada a citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 e IL-8 que participam de um loop de feedback autócrino para reforçar a parada do crescimento e supressão tumoral em células senescentes (KITA, 2022). Esse fenômeno é marcado pelo encurtamento dos telômeros após um determinado número de divisões celulares, pela alteração do metabolismo, danos nas macromoléculas e interrupção do ciclo celular na fase G1/S (mesmo permanecendo metabolicamente ativas).

As células senescentes apresentam morfologias diferentes, *in vivo* e *in vitro*. Assim, em cultura *in vitro* as células senescentes são caracterizadas por múltiplos núcleos, aparelho de Golgi e citoplasma mais proeminentes e vacuolados. Diferentemente, as células senescentes *in vivo* apresentam a morfologia normal, de acordo com a arquitetura do tecido (MUÑOZ-ESPÍN, 2014). Foi observado por Wiley e Campisi que as células senescentes,

também, são acompanhadas do aumento da biogênese mitocondrial que gera quantidades excessivas de ROS. Além disso, as células senescentes contêm muitos lisossomos, que podem ser detectados pela alta atividade de β -galactosidase (WILEY, 2021).

A quantidade de fatores oxidativos, que são produzidos pelas células senescentes, pode gerar uma inflamação crônica no organismo, comprometendo a sua função tecidual. Além disso, podem estimular fenótipos malignos, e conseqüentemente induzir a formação de cânceres (TURINETTO,2016).

As células senescentes podem exercer efeitos benéficos, como na cicatrização de feridas devido a produção de matriz extracelular (MEC) que previne a fibrose excessiva. Durante o desenvolvimento embrionário a senescência é essencial para remodelar o tecido e moldar a organogênese. Além disso, o acúmulo de células endoteliais senescentes acelera o fechamento da ferida e reduz o tamanho da cicatriz fibrótica (SMITH, 2021).

Dependendo do tipo de patologia a qual a senescência celular está relacionada (GORGOULIS, 2019), o processo pode ter um efeito benéfico ou prejudicial, por exemplo, a ativação aguda de p53 em carcinomas hepatocelulares e sarcomas induz a senescência, que é seguida pela eliminação do tumor, ao contrário da catarata que é agravada devido a senescência celular, ou na obesidade já que a senescência contribui para seus efeitos patológicos como a inflamação sistêmica e resistência à insulina. Portanto, a indução da senescência seguida de remodelação tecidual é benéfica, pois contribui para a eliminação das células danificadas. Por outro lado, a senescência persistente ou a incapacidade de eliminar células senescentes é prejudicial.

A via da proteína p53 detecta a presença de algumas condições perigosas, e desencadeia a parada temporária ou permanente do ciclo celular (senescência) ou suicídio por apoptose. Embora a senescência celular seja sugerida como um mecanismo defensivo que previne a tumorigênese devido às vias tumorais p53 e pRB que são reguladores do acúmulo de células senescentes, esse mecanismo também pode provocar a inibição de P53 e induzir células senescentes a reentrar no ciclo celular. Apesar disso, o acúmulo

dessas células - que pode ser induzido por estresses endógenos e exógenos - no tecido adiposo causa múltiplas disfunções como adipogênese defeituosa e inflamação. Além disso, a regulação positiva contínua de mediadores pró-inflamatórios, como as iNOS (Óxido Nítrico Sintase) pode promover a senescência celular, que se tornará uma fonte de secreção pró-inflamatória.

A senescência parece se iniciar mais precocemente no tecido adiposo, impactando negativamente em sua função, secreção de adipocinas e diferenciação celular. Alguns estudos em modelos murinos demonstraram que o aumento de ROS é uma das principais causas de senescência adiposa. O aumento dessas moléculas leva a manifestação de um fenótipo senescente que inclui a secreção de β -galactosidase, do fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e IL-6 (WILEY, 2021).

Já foi observado a senescência prematura em pacientes com diversas patologias, inclusive com obesidade, sendo que alguns estudos genéticos e farmacológicos provaram que a limpeza de células senescentes no tecido adiposo pode melhorar o metabolismo sistêmico. Além disso, atualmente uma grande quantidade de agentes senolíticos estão sendo avaliadas com o objetivo de eliminar as células senescentes do organismo (GOH, 2020).

O acúmulo de células senescentes é observado em úlceras diabéticas, dependendo da comunicação celular e expressão de SASP. A função alterada e o perfil secretor das células senescentes têm sido associados a várias doenças relacionadas à idade e outras patologias que estão associadas à senescência celular prematura em diversos tecidos (KITA, 2022).

Levando isso em consideração, num estudo realizado por Arisa Kita e colaboradores em 2022, foi investigado o processo da senescência celular na pele e no tecido adiposo subcutâneo durante a cicatrização de feridas em camundongos diabéticos tipo 2. Os pesquisadores notaram um aumento nos níveis de expressão gênica relacionados à senescência no tecido adiposo subcutâneo durante a cicatrização de feridas. A pesquisa concluiu que diferentes tipos de senescência celular ocorrem entre a cicatrização de feridas normais e diabéticas em resposta a feridas.

Algumas evidências sugerem que as células senescentes alteram o metabolismo lipídico, visto que quando as gotículas lipídicas aumentam e se

acumulam apresentam algumas formas de senescência celular. Isso leva ao aumento dos níveis de lipídios exógenos e previne a regulação positiva de SASP. Por fim, é preciso considerar que a presença de lipídios é essencial para que ocorra a senescência (WILEY, 2021).

A senescência celular também está relacionada ao declínio do potencial regenerativo e da função de vários tecidos, que impulsionam o mecanismo sistemático de envelhecimento. O tecido adiposo é local de grande acúmulo de células senescentes durante o envelhecimento, devido a combinação dos estresses que são induzidos por citocinas e metabólicos (MUÑOZ-ESPÍN, 2014).

Em outro estudo, a senescência tecidual foi investigada pela ablação de DNA polimerase em camundongos, que levou a um grande dano no DNA e expressão regulada positivamente de ataxia-telangiectasia mutada (ATM), p53 e p2. Mesmo seguindo uma dieta padrão, os camundongos apresentaram gordura corporal acentuada e de acúmulo de células senescentes com perfil SASP. Diferentemente, os animais usando antioxidante N-acetilcisteína para diminuir a quantidade de danos no DNA tiveram redução da carga de células senescentes no tecido adiposo (SMITH, 2021).

Normalmente, as células senescentes são eliminadas pelo sistema imunológico. No entanto, o aumento da formação de células senescentes pode reduzir a capacidade das células imunes de eliminá-las, levando ao seu acúmulo e aceleração do processo de envelhecimento (SMITH, 2021). Algumas proteínas secretadas por células senescentes causam inflamação, o que pode ser fundamental para a eliminação de células senescentes por fagocitose, inclusive devido a ação parácrina de algumas células, que influenciam as células vizinhas (WILEY, 2021). A eliminação de células senescentes é uma estratégia promissora para reduzir a inflamação sistêmica crônica e rejuvenescer os tecidos. O processo de reparo tecidual graças a senescência é algo comum e benéfico, contudo, com o envelhecimento esse processo se torna antagônico, sendo mais visto em idosos (BAJEK, 2012).

Marcadores de senescência celular

A senescência celular é difícil de se analisar, principalmente porque ainda não possui uma boa definição, já que decorre de um conjunto de fatores intrínsecos e extrínsecos que podem ou não ocorrer em conjunto. Apesar disso, é possível perceber diferenças fenotípicas entre as células mais novas e as mais antigas. Para isso são usadas algumas técnicas como a imunocoloração, hibridização *in situ*, citometria de fluxo multicolorida e citometria de massa. Contudo, ainda existem muitas limitações principalmente com a perda de informações (KAMAL, 2020).

As células senescentes são diferenciadas de outras células que não se dividem, como células quiescentes, por marcadores e alterações morfológicas. São marcadas pela ausência de marcadores proliferativos como a proteína Ki67, e de outros marcadores como a p16, p21 e p27. É possível observar, também, a atividade de β -galactosidase associada à senescência (SA β GAL), expressão de supressores tumorais e inibidores do ciclo celular. Mesmo que nenhum desses marcadores seja completamente específico ou universal para todos os tipos de senescência, as células senescentes expressam a maioria deles (GUADIX, 2017).

Um dos primeiros biomarcadores associados à senescência celular descoberto foi a da β -galactosidase, devido a um ensaio colorimétrico simples. Isso foi fundamental para mostrar que células com características de senescência se acumulam em locais de doenças associadas ao envelhecimento e em idosos.

Outro método que vem sendo utilizado envolve o uso de marcadores de superfície ou histoquímicos para refletir o grau de envelhecimento celular, como a β -galactosidase (β -gal). Essa enzima catalisa a hidrólise de β -galactosídeos em monossacarídeos. Em pH 6,0, a enzima β -gal hidrolisa um composto incolor e solúvel constituído por galactose ligada a um indol (X-gal) liberando um produto azul profundo e insolúvel em na cultura de células (Mera-Rodríguez, 2021). A presença de β -gal é útil para distinguir células senescentes das células quiescentes que são aquelas que estão metabolicamente ativas apesar de não proliferarem naquele momento, e que ao contrário das células senescentes podem ter o ciclo celular reiniciado. A

atividade da β -gal é um resultado e não uma causa da senescência e tem se mostrado um marcador eficaz para análise desse mecanismo (Bo Yun, 2006).

O impacto da senescência nas células-tronco mesenquimais

As CTM estão em grande evidência principalmente pelo papel que podem vir a desempenhar nas terapias médicas. Essas células são de fácil manipulação no laboratório (YARAK, 2010) e capazes de secretar fatores bioativos que podem inibir a apoptose e estimular a angiogênese e a mitose de células progenitoras. De forma geral, a senescência diminui a capacidade das células-tronco de se multiplicarem e diferenciarem, tornando-as inviáveis.

Um estudo elaborado por Wolfgang Wagner e seus colaboradores evidenciou que a senescência replicativa de CTM tem implicações funcionais na expressão de marcadores de superfície e potencial de diferenciação que provoca mudanças significativas na expressão gênica. Os efeitos encontrados não foram restritos a passagens senescentes, mas foram adquiridos desde o início da cultura in vitro. A morfologia e aderência foram alteradas, assim como o nível de expressão do marcador de superfície e o potencial de diferenciação adipogênica e osteogênica. Além disso, os resultados mostraram que o potencial de diferenciação adipogênica das CTM diminuiu, enquanto para a diferenciação osteogênica aumenta em passagens superiores. Essas observações foram baseadas na formação de gotículas de gordura e na deposição de fosfato de cálcio.

Com base em diversos estudos os pesquisadores Daniel Muñoz-Espín e Manuel Serrano concluíram, no ano de 2014, que a senescência é um componente-chave da remodelação tecidual, devido a parada proliferativa e aos SASP que recrutam células imunes e mobilizam células progenitoras. É possível que a deterioração dos processos de manutenção tecidual seja devido aos SASP que é formado por citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e proteases da MEC. Sua composição é variável e depende principalmente do

tipo de célula e do estímulo recebido, que dependendo do contexto podem reforçá-la ou afetar o microambiente tecidual local (DI MICCO, 2021).

Além disso, a senescência é um ótimo mecanismo de supressão tumoral, mas o SASP secretado altera o comportamento das células vizinhas e a qualidade do ambiente extracelular. Por exemplo, o SASP desencadeia a proliferação de epitélio pré-maligno e maligno, aumenta a invasão e induz metaplasia – alteração do fenótipo da célula (LI, 2017).

Portanto, esse conjunto de moléculas atua na célula e altera o comportamento das células vizinhas e do microambiente tecidual. Suas principais características são a variabilidade, plasticidade e dinamicidade que se adequa ao ambiente ao longo do tempo. Além disso, alguns dos seus componentes podem levar à inflamação estéril, e conseqüentemente a infiltração de macrófagos e linfócitos, apoptose e fibrose (CHILDS, 2015). Como seu efeito pode variar entre benéfico e prejudicial, dependendo das circunstâncias, tem se estudado abordagens pró- e anti-senescentes podem ser desejáveis, dependendo do contexto terapêutico. Mas, para serem clinicamente úteis, as células devem ser expandidas *in vitro* ao longo de várias duplicações. Mas, sua viabilidade não depende apenas disso, outros fatores influenciam o seu potencial terapêutico. As células de doadores jovens têm um desempenho melhor em comparação com a de idosos devido à sua maior capacidade proliferativa e potencial de diferenciação (LIU, 2020).

Contudo, independentemente da idade do doador, as CTM adquirem um fenótipo senescente após muitas passagens. É estimado que 40 é o número máximo de duplicações a serem realizadas de forma a manter as células ainda viáveis. O comprimento médio dos telômeros dessas células podem chegar a 13 kb, sendo que seu crescimento é interrompido quando os telômeros atingem o tamanho limite de 5 kb.

Fenótipo das CTM senescentes

Como já foi citado a sociedade internacional de terapia celular (ISCT) propôs os critérios mínimos para a definição de CTM em 2006: adesão ao plástico; expressão dos marcadores de superfície CD90, CD73 e CD105, na

ausência de CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 β , CD19 e HLA-DR e potencial de diferenciação multipotente de condrócitos, osteoblastos e adipócitos sob diferentes condições padrão *in vitro* (LI, 2017).

O fenótipo a senescência de CTM é caracterizado pela parada de crescimento na fase G1 do ciclo celular, morfologia aumentada ou achatada com citoplasma granular, aumento da expressão de β -galactosidase e alteração dos marcadores de superfície. Também possuem excesso de fibras de actina, menor aderência às superfícies plásticas e aumento do nível de autofluorescência. Além disso, muitas citocinas e fatores de crescimento são secretados por CTM e regulam sua proliferação em culturas, incluindo IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-17, que são constituintes da SASP.

Apesar de suas características globais, as CTM são populações de células complexas. Sua heterogeneidade depende do doador e da fonte de tecido, por exemplo. A heterogeneidade compreende a taxa de proliferação, morfologia, imunofenótipo, potencial de diferenciação multilinhagem e senescência (LIU, 2020).

As CTM até a 3ª passagem possuem tamanho uniforme, mas, na 6ª já estão quase 5 vezes maiores do que as células da 1ª passagem. As características morfológicas ajudam a prever a possibilidade das células se adaptarem a uma determinada condição.

Considerações finais

Com base no exposto nesta revisão é possível concluir que apesar da senescência celular ser um processo natural do organismo, dependendo do contexto, pode desempenhar um papel benéfico ou não, podendo inclusive levar ao desenvolvimento ou potencialização de algumas patologias. Diferentes formas de senescência influenciam na proliferação e diferenciação das CTM tornando-as inviáveis para o uso clínico. É fundamental o desenvolvimento de novos protocolos pró ou anti-senescentes, além do desenvolvimento de novos marcadores que facilitem essa investigação.

REFERÊNCIAS

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. **Biologia molecular da célula**. 6 ed. Porto Alegre: ARTMED, 2017.

BAJEK, Anna *et al.* **Does aging of mesenchymal stem cells limit their potential application in clinical practice?** Aging Clinical and Experimental Research, v. 24, n. 5, p. 404-411, 2012.

BO YUN, Lee *et al.* **Senescence-associated β -galactosidase is lysosomal β -galactosidase.** Journal compilation, v. 5, p. 187-195, 2006.

CHILDS, Bennett G. *et al.* **Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy.** Nature medicine, v. 21, n. 12, p. 1424-1435, 2015.

DE MERA-RODRÍGUEZ, José Antonio *et al.* **Is senescence-associated β -galactosidase a reliable in vivo marker of cellular senescence during embryonic development?** Frontiers in cell and developmental biology, v. 9, p. 623175, 2021.

DI MICCO, Raffaella *et al.* **Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities.** Nature Reviews Molecular Cell Biology, v. 22, n. 2, p. 75-95, 2021.

DUGGAL, Shivali; BRINCHMANN, Jan E. **Importance of serum source for the in vitro replicative senescence of human bone marrow derived mesenchymal stem cells.** Journal of cellular physiology, v. 226, n. 11, p. 2908-2915, 2011.

GOH, Kim Jee *et al.* **Human pluripotent stem cell-based models suggest preadipocyte senescence as a possible cause of metabolic complications of Werner and Bloom Syndromes.** Scientific reports, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.

GORGOULIS, Vassilis *et al.* **Cellular senescence: defining a path forward.** Cell, v. 179, n. 4, p. 813-827, 2019.

GUADIX, Juan A.; ZUGAZA, José L.; GÁLVEZ-MARTÍN, Patricia. **Characteristics, applications and prospects of mesenchymal stem cells in cell therapy.** Medicina Clínica (English Edition), v. 148, n. 9, p. 408-414, 2017.

HAYFLICK, Leonard. **The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains.** Experimental cell research, v. 37, n. 3, p. 614-636, 1965.

KAMAL, Nor Shaheera Mohamad *et al.* **Aging of the cells: Insight into cellular senescence and detection Methods.** European journal of cell biology, v. 99, n. 6, p. 151108, 2020.

KITA, Arisa *et al.* **Altered regulation of mesenchymal cell senescence in adipose tissue promotes pathological changes associated with diabetic wound healing.** Communications Biology, v. 5, n. 1, p. 1-16, 2022.

LE BLANC, K. *et al.* **Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells.** *Lancet*, v. 363, n. 9419, p. 1439–1441, 1 maio 2004.

LEE, J. W. *et al.* **Allogeneic human mesenchymal stem cells for treatment of E. coli endotoxin-induced acute lung injury in the ex vivo perfused human lung.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 106, n. 38, p. 16357–16362, 22 set. 2009.

LI, Yi *et al.* **Senescence of mesenchymal stem cells (Review).** *Int J Mol Med*, 2017.

LIU, Jing *et al.* **Senescence in mesenchymal stem cells: functional alterations, molecular mechanisms, and rejuvenation strategies.** *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 8, p. 258, 2020.

MUÑOZ-ESPÍN, Daniel; SERRANO, Manuel. **Cellular senescence: from physiology to pathology.** *Nature reviews molecular cell biology*, v. 15, n. 7, p. 482-496, 2014.

OU, Min-Yi *et al.* **Adipose tissue aging: mechanisms and therapeutic implications.** *Cell death & disease*, v. 13, n. 4, p. 1-10, 2022.

PATEL, Devang M.; SHAH, Jainy; SRIVASTAVA, Anand S. **Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in regenerative medicine.** *Stem cells international*, v. 2013, 2013.

PETRIE ARONIN, Caren E.; TUAN, Rocky S. **Therapeutic potential of the immunomodulatory activities of adult mesenchymal stem cells.** *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, v. 90, n. 1, p. 67-74, 2010.

SEVERINO, Joseph *et al.* **Is β -galactosidase staining a marker of senescence in vitro and in vivo?** *Experimental cell research*, v. 257, n. 1, p. 162-171, 2000.

SHARMA, Ratti Ram *et al.* **Mesenchymal stem or stromal cells: a review of clinical applications and manufacturing practices.** *Transfusion*, v. 54, n. 5, p. 1418-1437, 2014.

SMITH, Ulf *et al.* **Cellular senescence and its role in white adipose tissue.** *International Journal of Obesity*, v. 45, n. 5, p. 934-943, 2021.

SOTIROPOULOU, Panagiota A. *et al.* **Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells.** *Stem cells*, v. 24, n. 2, p. 462-471, 2006.

TOGEL F; HU Z, WEISS K; ISAAC J; LANGE C, WESTENFELDER C. **Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms.** *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289(1):F31-42.

TURINETTO, Valentina; VITALE, Emanuela; GIACHINO, Claudia. **Senescence in human mesenchymal stem cells: functional changes and implications in stem cell-based therapy.** *International journal of molecular sciences*, v. 17, n. 7, p. 1164, 2016.

UCCELLI, A.; MORETTA, L.; PISTOIA, V. **Mesenchymal stem cells in health and disease**. Nature Reviews Immunology Nat Rev Immunol, set. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19172693/>>. Acesso em: 4 mar 2021.

WAGNER, Wolfgang et al. **Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process**. PloS one, v. 3, n. 5, p. e2213, 2008.

WILEY, Christopher D.; CAMPISI, Judith. **The metabolic roots of senescence: Mechanisms and opportunities for intervention**. Nature Metabolism, v. 3, n. 10, p. 1290-1301, 2021.

YARAK, Samira; OKAMOTO, Oswaldo Keith. **Células-tronco derivadas de tecido adiposo humano: desafios atuais e perspectivas clínicas**. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 85, n. 5, p. 647-656, 2010.

ZUTTON, Marília Sanches Santos Rizzo *et al.* **Adipose tissue-derived stem cells and the importance of animal model standardization for pre-clinical trials**. Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva, v. 21, p. 281-287, 2013.