

P 4152

Estudo do efeito do meio condicionado por células-tronco mesenquimais sobre a proliferação de células MIN6 através de duas técnicas: ensaio da sulforrodamina B e avaliação da porcentagem da confluência celular

Ketlen da Silveira Moraes, Fatima Theresinha Costa Rodrigues Guma, Elvira Alicia Aparicio Cordero
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

INTRODUÇÃO: A linhagem celular murina MIN6 assemelha-se as células pancreáticas, secretando insulina em resposta a glicose. O meio condicionado (MC), é um meio de cultura que esteve em contato com algum tipo celular e se caracteriza por conter substâncias produzidas e liberadas que podem ser transferidas ou atuar em outro tipo celular. Estudos demonstraram que o MC por células tronco mesenquimais (CTMs) pode modular a reparação de lesões. **OBJETIVO:** Avaliar o efeito da incubação por 24, 48 e 72 horas com MC por CTMs sobre a proliferação de monocamadas de MIN6 por duas técnicas: Ensaio da sulforrodamina B (SRB) e avaliação da porcentagem da confluência celular. **METODOLOGIA:** O MC foi obtido de CTMs de tecido adiposo murino, cultivadas por 24, 48 ou 72h com DMEM Low/ 10%SBF. Para os experimentos, foram semeadas 1000 células MIN6/poço e incubadas por 24, 48 e 72 horas com: DMEM High (4,5 g/L de glicose), DMEM Low (1g/L de glicose), MC por CTMs (24, 48 e 72 h) e MC de CTMs por 24 horas em DMEM Low s/SFB. A porcentagem de confluência foi determinada pela varredura da placa, em 560nm, usando um MiniMax 300 ImagingCytometer acoplado a um SpectraMax i3. Para o ensaio da SRB as culturas foram fixadas com paraformaldeído 4% por 15 min, incubadas com SRB 0,4% em ácido acético glacial 1% por 1 hora, lavadas para retirar o excesso de corante. O corante foi solubilizado com de SDS 1% e a absorbância determinada em 560nm. Todos os experimentos foram feitas em triplicata. **RESULTADOS:** Os resultados foram semelhantes nas duas técnicas. O MC por CTMs estimula a proliferação das MIN6 e o efeito é proporcional ao tempo de condicionamento do meio. Os resultados obtidos com MC por 72 h foram significativos. A incubação das MIN6 com DMEM Low/ 10%SBF confirmou o efeito proliferativo do MC. **CONCLUSÃO:** Este trabalho demonstra que o MC por CTMs estimula a proliferação das monocamadas de MIN6 e que o efeito foi proporcional ao tempo de cultura e de condicionamento do meio. **Palavras-chaves:** MIN6, proliferação, mesenquimais.