

Emprego de matrizes quimicamente definidas para derivação e formação de colônias de células-tronco embrionárias

VILAVERDE, André Wallau.

Acadêmico de Medicina e Bolsista Voluntário de Pesquisa vinculado ao Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS.

RUGGERI, Rafael.

Departamento de Ciências Morfológicas- ICBS- UFRGS

RIGON, Paula.

Departamento de Ciências Morfológicas- ICBS- UFRGS

FRANTZ, Nilo.

Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, Porto Alegre, RS

BOS-MIKICH, Adriana. (orientadora)

Departamento de Ciências Morfológicas- ICBS- UFRGS



Desde o lançamento da primeira linhagem de células-tronco embrionárias (CTE), o sucesso da metodologia muito se deveu ao uso de um substrato vivo de células nutridoras tipo fibroblastos, de origem animal ou humana. Estas células mantinham as CTE com um bom índice proliferativo e em estado indiferenciado. Entretanto, o emprego de camadas nutridoras, ou meios de cultivo que foram condicionados por elas têm o potencial de transmitir patógenos e/ou tornar as CTE imunoreativas ao futuro receptor, quando do emprego em terapias regenerativas humana. O objetivo deste estudo foi testar a viabilidade do uso de substratos quimicamente definidos para derivação de colônias de CTE bovinas, como modelo para a derivação e geração de novas linhagens de CTE humanas com grau clínico.

Materiais e Métodos

Géis de diferentes composições: “Gel” (gelatina) e GG (gelatina+galactomanana), em duas concentrações (0,1 e 0,3) foram elaborados pelo Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química da UFRGS. Estas matrizes foram depositadas no fundo de placas de 4-fossas, às quais foi acrescido um meio quimicamente definido, disponível comercialmente e fatores de crescimento. As massas celulares internas (ICM) de blastocistos gerados *in vitro*, foram isoladas mecanicamente, postas sobre o substrato e deixadas em incubadora a 38.5°C por 24 horas para então ser avaliado o índice de adesão. Após 48hrs de cultivo foi aferida a taxa de expansão das colônias primárias. Foram feitas duas repetições para o gel GG 0,3 e três repetições para os géis Gel e GG 0,1.

Resultados

Das 48 ICMs postas no Gel, 8 (16%) aderiram ao substrato e 1 colônia primária apresentou expansão por dois dias, vindo a regredir e degenerar subsequentemente. Nas GGs 0,1, e 0,3 das 20 e 16 ICMs colocadas para cultivo, 14 e 12 aderiram à matriz, respectivamente, mas sem qualquer expansão em nenhum dos substratos.

Conclusões

Estes resultados iniciais utilizando matrizes e meio quimicamente definidos, nos indicam que o “gel” é um substrato que permite a derivação e a expansão das possíveis células-tronco embrionárias. Devemos agora aprimorar esta matriz de forma a aumentar o índice de derivação e expansão das células embrionárias. Acreditamos que com estes dados poderemos em breve extrapolar a metodologia para a derivação e geração de linhagens humanas com grau clínico em nossa Universidade.