

092

EFEITO DO TSH SOBRE A PROLIFERAÇÃO CELULAR EM CÉLULAS FOLICULARES DE RATO, FRTL-5. Rony B. Nunes Jr., Andreia M. I. Sopelsa, Tania W. Furlanetto (Laboratório de Cultivo Celular, Serviço de Genética Médica, HCPA).

Objetivos: Montar a técnica para medir a incorporação de timidina triciada pelas células FRTL-5, como medida de proliferação celular. Materiais e Métodos: Os experimentos foram realizados em células FRTL-5, semeadas em placas de 24 poços em meio contendo TSH. Após 4 dias, as células foram depletadas de TSH, por 7 dias, antes do estímulo. Os poços controle foram mantidos sem TSH e os outros foram tratados com TSH na concentração de 20 microUI/mL. Um dia após o estímulo as células recebiam 50 microlitros de meio controle contendo 2 microCi de timidina triciada. A incubação com timidina foi mantida por 24 horas, no final das quais, o conteúdo dos poços foi aspirado, os poços foram lavados com solução PBS gelada, adicionando-se 1ml de solução de tricloroacético a 5%. Após um mínimo de 15 min, esse ácido foi aspirado, adicionando-se solução de difenilamina por 24 h. Após a leitura da densidade óptica para cálculo do conteúdo de DNA, 200 microlitros do material dos poços foi colocado em 3 ml de líquido de cintilação para contagem de radiações beta. O número de contagens foi corrigido para o conteúdo de DNA do poço. Foram estudados 2 grupos, com 6 poços cada : 1º) Incubação com meio sem TSH; 2º) Incubação com TSH. Análise estatística: Teste de Mann-Whitney para variáveis dicotômicas. Resultados: O conteúdo médio de DNA nos 2 grupos foi de : 1º) 0, 833+-0, 021microgramas/poço; 2º)0, 998+-0, 088microgramas/poço (p<0, 004) e a incorporação de timidina triciada média nos dois grupos foi de: 1º) 15. 211, 5+-1. 743, 5 cpm/microgramas de DNA; 2º) 68. 355, 9+-9. 405, 9 cpm/microgramas de DNA (p<0, 004). Conclusões: Houve aumento da proliferação celular pelas células FRTL-5, na presença de TSH. Esse aumento foi evidenciado pelas duas técnicas utilizadas, medida do DNA celular e incorporação de timidina triciada. (CNPq, FAPERGS e FIPE-HCPA)