



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Viabilidade do uso de hidrogéis sintéticos como substrato para cultivo de células somáticas e iPS em condições de grau clínico
Autor	EDUARDO DE OLIVEIRA SANGUINET
Orientador	ADRIANA BOS MIKICH

Título: Viabilidade do uso de hidrogéis sintéticos como substrato para cultivo de células somáticas e iPS em condições de grau clínico.

Autor: Eduardo Sanguinet

Orientador: Adriana Bos-Mikich

Instituição de origem: Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

A utilização de células tronco pluripotenciais em tratamentos clínicos será possível quando a derivação, cultivo, proliferação e diferenciação ocorram sob condições quimicamente definidas, que não venham a desenvolver uma resposta imunológica ou possam transmitir algum patógeno ao receptor da células ou tecidos em terapias de medicina regenerativa. Como parte de nossa pesquisa com componentes de matrizes extracelulares quimicamente definidos para a derivação de células tronco embrionárias humanas sob condições de grau clínico, este estudo testou a citotoxicidade de dois tipos de hidrogéis. Estas matrizes foram produzidas pelo Instituto de Química da UFRGS e consistem na mistura de um polímero sintético PVA, poli (álcool-vinílico) reticulado com moléculas de ácido cítrico e o ácido 1,2,3,4-butano tetracarboxílico (BTCA). Os substratos foram testados utilizando fibroblastos embrionários de camundongos (MEF's) para aferimento da capacidade de adesão e proliferação destas células embrionárias.

Materiais e métodos:

As MEF's foram obtidas a partir de embriões de camundongos de 13,5 dias, sem órgãos hematopoiéticos, deixados durante 3 horas em solução de colagenase, e após cultivadas com DEMEM suplementado com 20% de soro sintético High Clone. Utilizamos culturas de MEF's não tratadas e tratadas com mitomicina (para aferir o grau de adesão), uma droga que inibe a divisão celular. As matrizes foram elaboradas pelo Instituto de Química (UFRGS). A matriz 1, é composta de 10% de PVA com 1% BTCA e a matriz 2, tem 20% de PVA com 1% BTCA..

Os substratos foram postos em foças de placas de quatro poços contendo meio de cultura, DEMEM suplementado com 10% de soro high clone, e deixado para equilibrar por 24 horas. Após este período, as MEF's, com e sem mitomicina, foram colocadas sobre os hidrogéis e incubadas a 38,5°C a 5% CO₂ em ar. Após 24 horas foi feita uma observação em microscópio de luz invertido acoplado a uma câmera das matrizes com MEFs tratadas ou não com mitomicina. As observações, fotografias, trocas de meio e fixações em paraformaldeído foram feitas a cada dois dias, durante uma semana, contando a partir das 24 horas após a colocação das MEFs sobre as matrizes. Estes períodos foram configurados do seguinte modo: Dia 1 (D1), Dia 3 (D3), Dia 5 (D5) e Dia 7 (D7) das células sobre os substratos. Foi feito um controle de cada matriz apenas com meio, não contendo células. Após o período de cultivo, as matrizes com as células aderidas foram fixadas e coradas com hematoxilina e eosína, para contrastar nas análises em microscopia óptica.

Resultados

A partir das análises dos dados podemos inferir que houve adesão e proliferação celular, este último sendo um dado qualitativo. As MEF's sem e com mitomicina aderiram em ambas as amostras das matrizes. Entretanto, as MEF's tratadas com mitomicina, droga que impede a divisão celular, não proliferaram e elas tiveram uma discreta diminuição na cultura ao longo do experimento em ambas as matrizes, comportamento já esperado. Por outro lado, as MEF's sem mitomicina proliferaram em ambas as matrizes, mas houve uma maior distribuição e proliferação celular sobre a amostra de matriz 2. Estes dados corroboram resultados anteriores do grupo no sentido de que matrizes quimicamente definidas são apropriadas para a derivação e proliferação/diferenciação de células tronco pluripotenciais.