397

DIFERENCIAÇÃO CELULAR NA LESÃO HEPÁTICA AGUDA: IDENTIFICAÇÃO DOS TIPOS CELULARES ENVOLVIDOS

Virginia Andrea Angiolini, Laura Simon, Mónica Luján López, Carolina Uribe Cruz, Lucia Mariano da Rocha Silla, Ursula Matte. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução: Células da fração mononuclear da medula óssea (FMMO) têm demonstrado capacidade de se diferenciar em células tipo hepatócitos e têm ganhado atenção como fonte promissora para terapia celular de doenças hepáticas, visto que o único tratamento disponível atualmente é o transplante hepático o qual, devido à falta de órgãos e complicações pós-cirúrgicas, está associado a uma alta mortalidade. Objetivos: Identificar a capacidade de diferentes populações de células da FMMO de se diferenciar em células tipo hepatócitos in vitro, a partir do co-cultivo com hepatócitos de animais com insuficiência hepática aguda (IHA). Métodos: Hepatócitos e células da FMMO foram isoladas de ratos Wistar adultos. A indução da IHA foi feita através da administração de Tetracloreto de Carbono (CCl4; 1,25 mL/Kg de peso do animal) e, após 24 horas, foi feita a perfusão hepática para obtenção dos hepatócitos. A FMMO foi obtida por gradiente de densidade com Ficoll e foi feita a depleção dos monócitos (ED1+) pelo sistema MACS (magnetic activated cell sorting). Prévio ao co-cultivo, a FMMO foi mantida em cultura por 72 horas para separação das frações aderente e não aderente. As frações aderentes e não aderentes da FMMO foram postas em co-cultivo com hepatócitos lesionados e normais (grupo controle) por 2, 6 e 24 horas, separadas por um inserto semipermeável. A análise da diferenciação foi feita por RT-PCR para avaliação da expressão dos genes hepáticos Albumina e Citoqueratina-18 assim como ensaio funcional de ureia que foram feitos para cada um dos tempos analisados. Resultados e conclusões: A análise da expressão gênica mostrou que somente as células da fração não aderente expressavam os genes hepáticos Albumina e Citoqueratina-18 depois de 24 horas de co-cultivo com hepatócitos lesionados. A produção de ureia pelas células da fração não aderente mostrou-se relativa ao tempo de exposição aos hepatócitos lesionados. Notavelmente, após 24 horas de co-cultivo a produção de uréia pelas células não aderentes foi maior que a de hepatócitos saudáveis usados como controle. As frações co-cultivadas com hepatócitos normais não mostraram sinais de diferenciação. Palavra-chave: Fração Mononuclear da Medula Óssea; Diferenciação; Células Tipo Hepatócitos. Projeto 12-0208