

**P 3412****Implementação de cultura celular de cardiomiócitos neonatais**

Bruna Luiza Becker, Juliana Oliveira Rangel, Bianca Fracasso, Michael Everton Andrades  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

**Introdução:** A cultura celular tem sido rotineira e extensivamente utilizada para os estudos na área da fisiologia e bioquímica celular. Na área da cardiologia, ela está entre um dos modelos experimentais mais utilizados, permitindo aos pesquisadores estudar e compreender características morfológicas, bioquímicas e eletrofisiológicas do coração. Embora linhagens celulares cardíacas imortalizadas já estejam comercialmente disponíveis, culturas primárias são mais relevantes do ponto de vista estrutural e funcional. Este estudo propõe o estabelecimento da cultura de cardiomiócitos a partir de ratos neonatos, com vista a fornecer uma metodologia para o estudo da fisiopatologia e bioquímica do cardiomiócito, somando conteúdo aos dados *in vivo* já produzidos. **Métodos:** Os corações dos neonatos de 2 dias foram retirados após eutanásia por decapitação e transferidos para meio livre de cálcio e magnésio, em gelo. Depois disso, vasos e tecidos indesejados foram retirados, lavados, cortados em pequenos pedaços e deixados com tripsina (50µg/mL) *overnight* 4°C. No segundo dia, o tecido digerido passou por uma nova digestão com colagenase (94 unidades/mL) em agitação a 190 rpm a 37°C. As células geradas foram plaqueadas por 1 h, para aderência dos fibroblastos, e o sobrenadante com os cardiomiócitos foi coletado. As células foram contadas e a viabilidade checada pela técnica azul de tripan em câmara de Neubauer, sendo semeadas em placas cobertas com gelatina, com densidade de  $1 \times 10^5$ /mL. **Resultados:** Foram realizadas três culturas celulares com um rendimento médio de  $15 \times 10^4$  células. Uma análise morfofuncional por microscopia foi feita para comprovação dos tipos celulares, e pôde-se visualizar a morfologia característica das estrias dos cardiomiócitos com contrações espontâneas. A suspensão celular foi analisada por citometria de fluxo, se obtendo assim duas populações celulares principais. Por tamanho e complexidade celular é possível inferir que a maior se trata dos cardiomiócitos e a segunda, seriam fibroblastos cardíacos. Porém, a imunofenotipagem utilizando anticorpo específico para cardiomiócitos é necessária para estimar a pureza da cultura celular. **Perspectivas:** A confirmação da pureza das próximas culturas se dará por meio de imunofenotipagem com citometria de fluxo, usando anticorpo primário específico (anti-troponina T) marcado com sonda fluorescente, juntamente com marcador de viabilidade celular. Projeto aprovado pelo C&EUA HCPA. **Palavras-chaves:** Cultura celular, cardiomiócitos, citometria de fluxo. Projeto 130445