

Viabilidade e proliferação celular em matrizes quimicamente definidas para futuro emprego em terapias regenerativas

RABUSKE, W.¹ RUGGERI, R.¹ RIGON, P.¹ FRANTZ, N.² BOS-MIKICH, A.^{1,2}

¹ Departamento de Ciências Morfológicas- ICBS- Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, Porto Alegre, RS

OBJETIVOS

A primeira linhagem de células-tronco embrionárias humana (CTEh) foi criada e desenvolvida em um substrato de células vivas que lhes conferiam a capacidade proliferativa e de manutenção do estado pluripotente. Visto que substratos de células vivas podem potencialmente transmitir patógenos às CTEhs e também não constituem as condições ideais para auto-renovação e manutenção da pluripotência, pesquisas vem sendo realizadas no sentido de substituir estes substratos por matrizes definidas como proteínas recombinantes ou peptídeos sintéticos. O emprego de proteínas recombinantes é limitado pelo seu elevado custo e a opção pela síntese de peptídeos sintéticos é no momento a alternativa mais atraente para testes de derivação e proliferação de linhagens de CTEs destinadas ao uso em medicina regenerativa humana. O objetivo deste estudo foi testar possíveis efeitos citotóxicos de géis sintéticos que servirão de substrato para CTEs produzidos pelo Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da UFRGS.

MATERIAL E MÉTODOS

Nove diferentes preparações de géis constituídos de galactomanana pura ou em combinação com gelatina acrescida ou não de EDC (agente reticulador da matriz) foram utilizadas como substrato para células do cumulus-oóforus (CC) para acessarmos uma possível citotoxicidade dos preparados. CCs bovinas foram postas em cultivo sobre as matrizes em meio TCM 199, a 38.5°C em atmosfera de 5% de CO₂. Após 48 horas de cultura, o meio foi substituído por fixador paraformolaldeído por 5 min e as matrizes foram tratadas para análises histológicas. Cada gel foi testado em duplicata. As matrizes não coradas foram analisadas em microscopia de contraste de fase e as coradas com hematoxilina e eosina foram analisadas em um microscópio óptico Olympus BX45.

RESULTADOS

Nossas análises revelaram tanto por microscopia de contraste como na óptica, células de contorno estrelado, espalhadas na matriz indicativo de aderência e migração celular e também células redondas, típicas das CC espalhadas entre as malhas do substrato. Ainda, foram observadas figuras de mitose e em um gel de galactomanana com gelatina (GG) e EDC, uma camada celular contínua pode ser observada cobrindo toda extensão da matriz. Em nenhum dos géis analisados foram observados sinais de lise celular ou núcleos picnóticos representativos de degeneração.

CONCLUSÃO

Nossos resultados permitem concluir que as preparações de matrizes testadas com CCs bovinas não são prejudiciais à sobrevivência e proliferação celular podendo potencialmente ser utilizadas para derivação e proliferação de CTEs humanos ou de outras espécies sob condições definidas e com grau clínico para terapias regenerativas.