

DIFERENCIAÇÃO IN VITRO DE CÉLULAS TRONCO EMBRIONÁRIAS EM CÉLULAS CARDÍACAS. Paz AHR , Terraciano PB , Baldo G , Giulgliani R , Matte U , Passos EP , Cirne-Lima, EO . Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento em Reprodução, Centro de Terapia Gênica, . HCPA.

Células tronco embrionárias são as células precursoras dos organismos, a partir delas, ocorre a gênese de todos os tipos de tecidos formadores do corpo. Possuem enorme plasticidade, podendo gerar tecidos da endoderme, mesoderme e ectoderme. São obtidas da camada central de células do embrião no estágio de blastocisto. Fato este que explica sua pluripotência, e não totipotência, já que as células da camada central não podem formar os anexos embrionários, e conseqüentemente nunca formarão um novo indivíduo completo. Dentre as principais características das células tronco, pode-se destacar a alta capacidade de proliferação e a possibilidade de se diferenciar em células mais especializadas. Este fenômeno pode ser reproduzido in vitro, fato este que faz com que as células tronco se tornem uma grande promessa no campo de terapias de tratamento para inúmeras patologias. Antes da indução de diferenciação as células devem ser agrupadas em massas celulares denominadas corpúsculos embrionários. Utilizamos para isto a técnica de "hanging drops" (Wobus et al. 1991) ou "gotas suspensas", que consiste basicamente em agregar um número conhecido de células tronco em gotas suspensas de 20 µl de meio de cultura, a fim de induzir a formação de corpúsculos embrionários. Depois de formar os corpúsculos embrionários, as células seguem uma seqüência de desenvolvimento onde, inicialmente, assumem características de endoderme, seguidas do desenvolvimento da ectoderme e formação da mesoderme em torno do quarto dia de cultura. Após 4 a 7 dias, em cultura de suspensão, os corpúsculos embrionários são plaqueados em frascos de cultura de células aderentes e se diferenciam em tipos celulares especializados assumindo, não só características morfológicas, mas também atividades funcionais típicas dos diferentes tipos celulares. No caso das células cardíacas pode-se verificar até mesmo as contrações características do tecido nas células diferenciadas. Neste trabalho, relatamos o estabelecimento do protocolo de diferenciação in vitro de células tronco embrionárias em células cardíacas por nosso grupo de pesquisa. As análises de diferenciação basearam-se na morfologia celular, e na expressão de genes específicos do tecido cardíaco por RT-PCR.