



ISOLAMENTO E CULTIVO DE CÉLULAS-TRONCO/ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO DE RECÉM-NASCIDOS A TERMO OU PREMATUROS

Matteus Teixeira Guerra, Valéria Pinhatti, Paulo Nader, Nance Beyer Nardi
Laboratório de Células-Tronco e Engenharia de Tecidos, PPGBioSaúde, ULBRA

Introdução

Apesar de raras no sangue do cordão umbilical, as células-tronco/estromais mesenquimais (MSCs) são abundantes na parede do cordão. Considerando-se o grande potencial de utilização terapêutica de células-tronco mesenquimais do cordão umbilical (MSCs-Co), torna-se também de alta importância a caracterização dessas células. Este trabalho tem como objetivo isolar e caracterizar MSCs-Co de recém-nascidos a termo, e prematuros nascidos de mães normais ou com pré-eclâmpsia, comparando morfologia, imunofenótipo e capacidade de diferenciação nestas populações.

Métodos

O cordão umbilical é coletado após o nascimento, havendo assinatura do termo de consentimento informado pelas mães. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da ULBRA (processo nº 1.697.263). As células tronco são isoladas a partir da veia do cordão umbilical, com o uso de colagenase tipo I diluída em 5 ml de HDMEM + 20% SFB, por cerca de 45 min a 37 °C. A morfologia das culturas é analisada por exame periódico em microscópio invertido com contraste de fase. A análise do fenótipo de superfície é realizada por incubação das células com anticorpos conjugados a fluorocromo e leitura em citômetro de fluxo BD Accuri C6 Plus. A capacidade de diferenciação celular é determinada por cultivo com meio indutor de diferenciação adipogênica e osteogênica.

Resultados e discussão

Até o momento, os métodos para isolamento e cultivo das MSC-Co foram estabelecidos com sucesso. As culturas apresentam uma morfologia fibroblastóide (Figura 1), que é característica deste tipo de células. A análise do fenótipo de superfície das células (Figura 2) mostrou que elas são negativas para marcadores hematopoiéticos (CD11b, CD34 e CD45) e endotelial (CD31), sendo entretanto positivas para CD105. Do mesmo modo, as culturas foram capazes de diferenciar nas vias adipogênica e osteogênica (Figura 3), comprovando sua identidade como células-tronco/estromais.

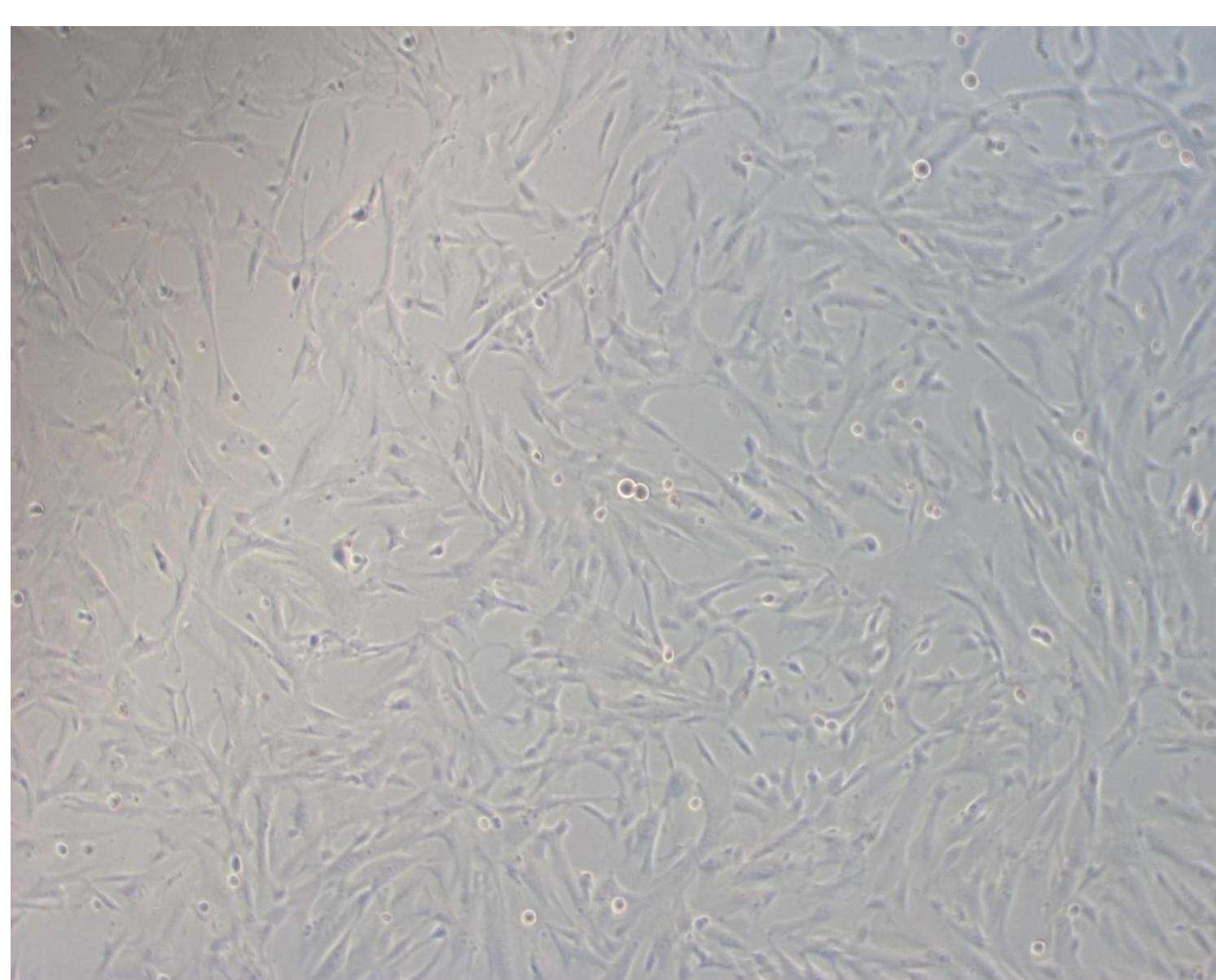


Figura 1 - Cultivo de MSC-Co de recém-nascido normal, em P2, com morfologia fibroblastóide característica deste tipo celular. Contraste de fase, aumento 100x.

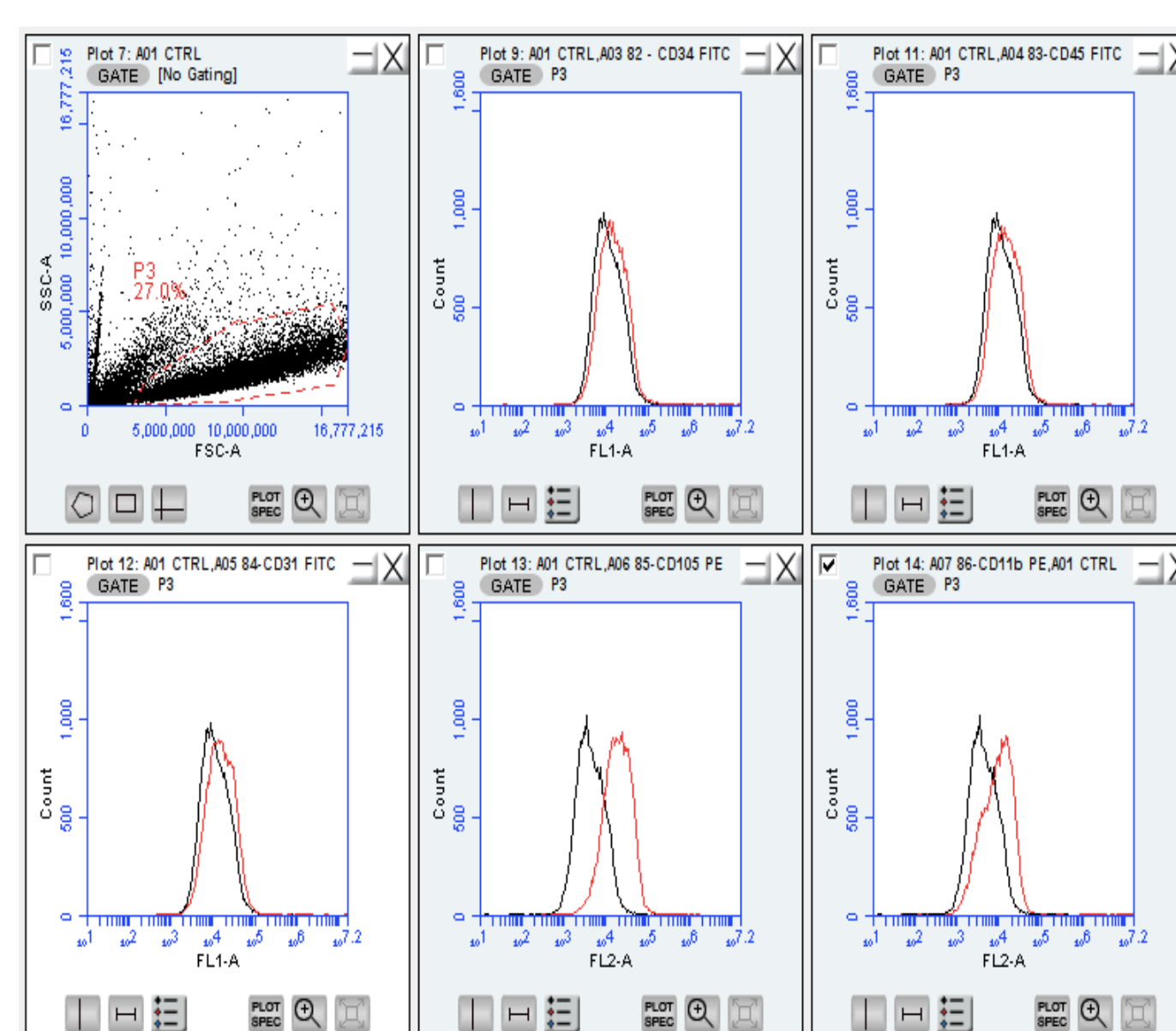


Figura 2 - Imunofenótipo de MSC-Co de recém-nascido normal, em P2.

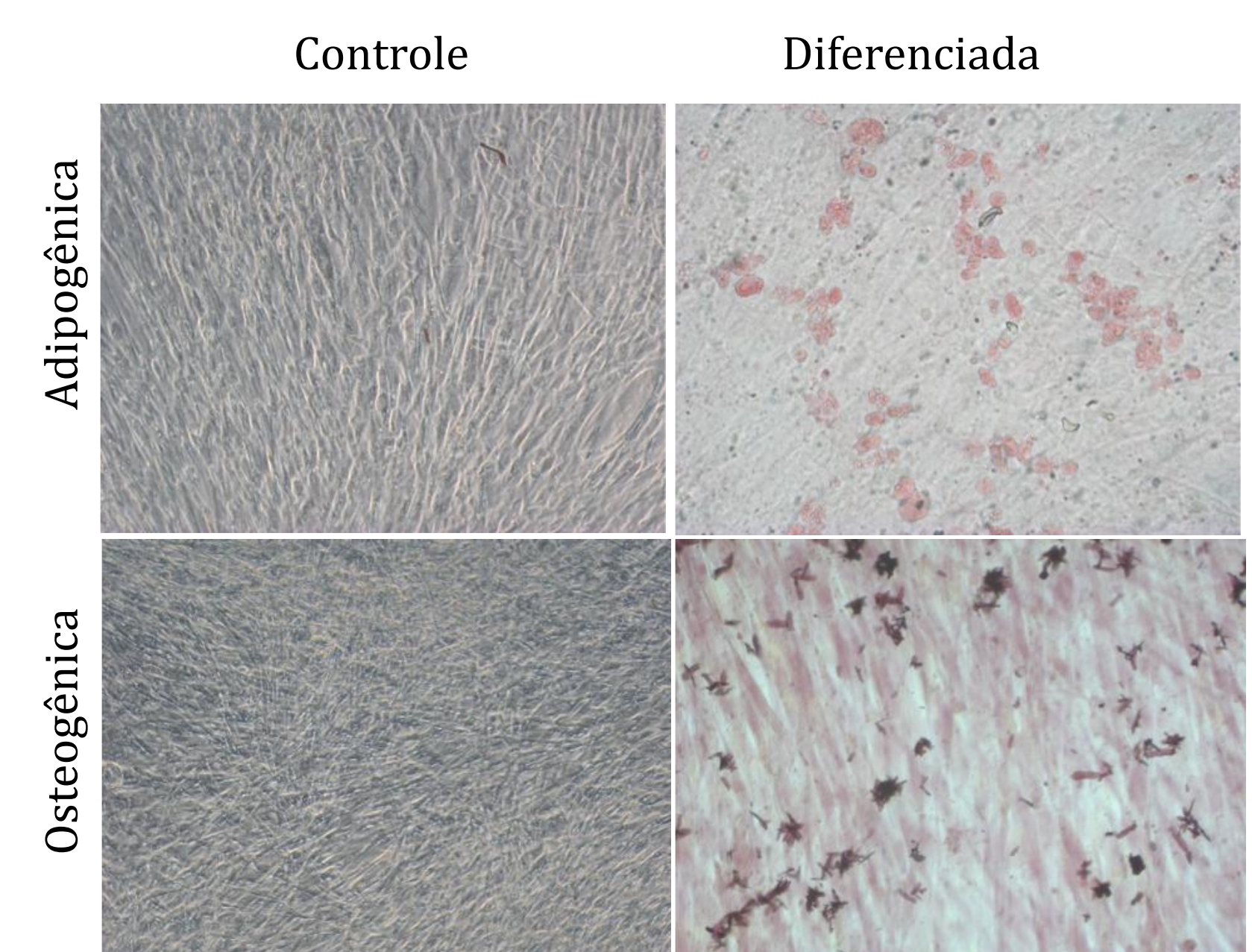


Figura 3 - Diferenciação adipogênica e osteogênica de MSC-Co. Culturas controle foram mantidas em meio convencional, enquanto culturas diferenciadas foram mantidas em meio indutor.

Conclusões

As amostras de cordão umbilical obtidas até o momento permitiram o estabelecimento dos métodos de isolamento e cultivo das células-tronco mesenquimais de cordão. O aumento do número de amostras neste estudo permitirá a comparação das MSC-Co normais e de prematuros de mães com ou sem pré-eclâmpsia.