



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Implementação de Cultura Celular de Cardiomiócitos Neonatais
Autor	BRUNA LUIZA BECKER
Orientador	MICHAEL ANDRADES
Instituição	Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Título: Implementação de Cultura Celular de Cardiomiócitos Neonatais

Autor: Bruna Luiza Becker

Orientador: Michael Everton Andrades

Instituição de origem: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

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. O presente 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. A partir daí, vasos e tecidos indesejados foram retirados, lavados, cortados em pequenos pedaços e deixados com tripsina (50µg/mL) *overnight* a 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 foi checada pela técnica de azul de tripan em câmara de Neubauer, sendo semeadas em placas cobertas com gelatina, em uma densidade de 1×10^5 /mL.

Resultados: Foi realizado um total de três culturas celulares com um rendimento médio de 15×10^6 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, com a qual se obteve 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.