



REVISTA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE E
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

REVISTA HCPA 2006; 26 (Supl 1) :1-267

26^a

Semana Científica
do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
5^a Reunião da Rede Nacional de Pesquisa
Clínica em Hospitais de Ensino
13º Congresso de Pesquisa e Desenvolvimento em Saúde do Mercosul

Anais

PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE DETECÇÃO DE CÉLULAS CD34 DE MEDULA ÓSSEA DE RATOS WISTAR

ANA AYALA LUGO; ANA HELENA PAZ, ANA PAULA ALEGRETTI, CRISTINA BITTAR, LUCIA SILLA, EDUARDO PASSOS, ROBERTO GIUGLIANI, NADINE CLAUSELL, ELIZABETH CIRNE LIMA, LUIS EDUARDO ROHDE

Introdução A célula tronco hematopoiética CD34+ é definida como uma célula com grande capacidade de auto-renovação e potencial proliferativo, o que possibilita a sua diferenciação em células progenitoras de todas as linhagens sanguíneas e a reconstituição da população hematopoiética a partir de uma única célula. Estas constituem de 0,05% a 0,1% da medula óssea e das células hematopoiéticas circulantes. **Objetivo** Na quantificação das células CD34+ por citometria de fluxo existe uma variabilidade associada à medida de eventos raros (devido a sua baixa frequência) o que faz necessário a otimização da precisão do ensaio, assim como o desenvolvimento de estratégias para a aquisição e definição dos pontos de corte. Animais e métodos Ratos Wistar foram tratados com 5 µg/kg de peso de G-CSF (leucin - filgrastim 300 mcg, laboratório Bergamo) durante 5 dias por via subcutânea. As células mononucleares de medula óssea de ratos tratados e não tratados foram isoladas mediante gradiente de densidade com Ficoll e 1 x 10⁶ células foram submetidas a análise por citometria de fluxo no FACScan (Becton Dickinson) com anticorpos monoclonais anti rato CD34-PE (Santa Cruz biotechnology) e CD45-FITC (Caltag). Controles dos isotipos foram usados em paralelo e 200.000 eventos foram adquiridos com o software cell quest. **Resultado** O número de células CD34+ obtidas dos animais tratados com G-CSF apresentaram um aumento de 5 vezes quando comparadas com os não tratados, em quanto que as células CD34+ de baixa complexidade apresentaram um aumento de 6 vezes maior. **Conclusões** Mediante o aumento significativo de células CD34+ nos ratos tratados com G-CSF quando comparados com os não tratados, foi possível estabelecer com maior exactitude e precisão o ponto de corte na detecção de células CD34 por citometria de fluxo.