

FITHEMAGLUTININA E/OU INTERLEUCINA 2 PARA CULTIVO CELULAR DE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO

Camila Bastos Ribeiro – Bolsista
Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer – Orientadora
BIOMEDICINA

Introdução

Os mitógenos são substâncias que têm sido amplamente utilizadas em imunologia, pois induzem a síntese de DNA, a transformação blástica e a divisão por mitose.(1) A fitohemaglutinina (PHA) e a interleucina-2 (IL-2) são dotadas das propriedades de ativar e induzir a proliferação de linfócitos humanos *in vitro*.(2-3) Assim, a adição aos cultivos celulares, em concentrações ideais otimiza a proliferação celular e a sobrevivência das células. O presente estudo visa identificar as concentrações ideais de fitohemaglutinina e/ou interleucina-2 que deverão ser acrescidas ao cultivo celular.

Métodos, procedimentos e materiais

A padronização da concentração ideal de PHA e IL-2 foi realizada após separação celular, por gradiente de densidade Ficoll-paque. As células foram contadas em Câmara de Neubauer e mantidas em meio RPMI 1640 com 20 mM de Hepes acrescido de 10% de soro fetal bovino inativado (SFB) e 2mM de L-glutamina, em microplaca. Posteriormente foram submetidas ao teste de exclusão em azul de Tripiano a 0,1% em PBS (4) para verificação da viabilidade celular. O grau de pureza da amostra foi realizado após distensão celular, utilizando-se coloração de Giemsa e leitura ao microscópio óptico. Utilizou-se 200 µL da solução com concentração de 2×10^5 células mononucleares (CMN) em cada poço. Foi adicionado 10µL da dosagem ótima (90 µL de solução estoque de PHA em 810 µL de RPMI) e subótima (125 µL de solução de estoque de PHA em 2375 µL de RPMI) de PHA e 1µL das dosagens ótima (9 µL da solução estoque de IL-2 em 81 µL de RPMI) e subótima (12,5 µL da solução estoque de IL-2 em 237,5 µL de RPMI) de IL-2, em conjunto e separadamente. Essas soluções foram adicionadas em triplicata aos poços da placa. Durante 72h foi observada a proliferação realizando-se contagens em Câmara de Neubauer.

Resultados e discussão

A recuperação das células mononucleares foi aumentando progressivamente com uma média de 70,75%. A viabilidade celular foi superior a 95%. Em todas as amostras analisadas o grau de pureza foi superior a 90%. A análise da utilização de fitohemaglutinina subótima e interleucina 2 no cultivo celular foi realizada com o objetivo de verificar o melhor resultado da replicação celular nas dosagens ótima e subótima, separadamente e em conjunto. A combinação que apresentou o melhor resultado foi observada quando se adicionou a dosagem de fitohemaglutinina subótima com a interleucina 2 subótima. As duas dosagens apresentaram uma ação sinérgica na proliferação celular. Esses resultados otimizam o tempo de cultura celular, conseguindo em menor intervalo de tempo um maior número de células.

Conclusão e referências

Este estudo foi realizado com o intuito de estabelecer condições ideais para a obtenção das células mononucleares e posteriormente a realização do cultivo celular. Nossos resultados permitiram identificar concentrações ideais de fitohemaglutinina e interleucina 2 que deverão ser acrescidas ao cultivo celular para otimizar a proliferação celular. Estudos posteriores serão realizados com o intuito de testar diferentes concentrações de peçonhas de cobras nas culturas de células mononucleares do sangue periférico.

Cruise JM & Lewis RE. Illustrated Dictionary of Immunology. New York. CRC press. 206, 1995. Nowell PC. Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leucocytes. Cancer Res., 20:426-426, 1960. Souza OL. IL-2 e a Sobrevivência de Neurônios Centrais. Dissertação de Mestrado Universidade Federal Fluminense. Niterói 48p, 2006. Tamietti BP et al. Cytoskeleton, endoplasmic reticulum and nucleus alterations in cho-k1 cell line after *Crotalus durissus terrificus* (south american rattlesnake) venom treatment. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis., 13(1): 57, 2007.

Palavras-Chave: fitohemaglutinina; interleucina-2; cultivo celular; concentração ideal

Modalidade de Fomento: BIC-PUC GOIÁS

Contato: camilabastos10@hotmail.com