

P 1171**Padronização da cultura organotípica para o estudo da terapia celular na doença inflamatória intestinal**

Michele Aramburu Serafini; Fabiany da Costa Gonçalves; Natalia Schneider; Fernanda Visioli; Ana Helena da Rosa Paz - HCPA

A Colite Ulcerativa (UC) é uma doença inflamatória intestinal, caracterizada por ser crônica e de etiologia desconhecida, que atinge a região do cólon e do reto. As drogas utilizadas englobam desde agentes imunossupressores e corticosteróides até a terapia biológica, porém estas drogas não fornecem a remissão definitiva da doença. Estudos tem demonstrado que as células-tronco mesenquimais (CTMs) são capazes de diminuir os sintomas clínicos e histopatológicos da colite ulcerativa quando transplantadas experimentalmente. A cultura de tecidos tem auxiliado na compreensão do funcionamento das células epiteliais da mucosa intestinal, assim como nos mecanismos de inflamação da mucosa. Na organização tecidual, as células são conectadas entre si e com a matriz celular, havendo uma série de interações celulares mecânicas e bioquímicas importantes. Desta forma, a cultura de explante de cólon, por ser mais representativa do tecido in vivo, pode apresentar vantagens para estudos biológicos, fisiológicos e imunológicos. Não encontramos na literatura estudos de CTMs co-cultivadas com fragmentos de tecido do cólon, bem como o efeito destas células sobre a mucosa inflamada neste método. No presente trabalho, objetivamos otimizar o protocolo de obtenção da cultura organotípica do cólon de camundongos C57Bl/6. Foram extraídos cólons de animais saudáveis. Os cólons foram lavados com PBS e solução antibiótica, e com auxílio de um punch dérmico, 7mm³ de diâmetro do tecido foram obtidos. Dois protocolos foram testados: em um grupo (n=3) os explantes foram cultivados entre a interface gasosa e líquida com o auxílio de um Transwell (para possibilitar as trocas gasosas) - Grupo Interface Gasosa (IG); já no segundo grupo (n=3), as culturas de explantes de cólon foram mantidas totalmente submersas - Grupo Submerso (SB). Após 48h de cultivo em meio de cultura DMEM low glucose contendo 10% de soro fetal bovino e 1% penicilina/estreptomicina, os explantes foram coletados, fixados em formalina tamponada 10% por 24 h e incluídos em blocos de parafina. Lâminas histológicas foram confeccionadas com coloração de Hematoxilina e Eosina para quantificação de células viáveis em 5 campos aleatórios. As análises iniciais demonstraram que o grupo SB apresentou maior viabilidade celular sendo este o melhor protocolo para o desenvolvimento da cultura organotípica. Dando seguimento ao trabalho, serão realizadas análises de imunohistoquímica para a proteína Ki67 para avaliar a proliferação celular. Unitermos: Cultura organotípica; Cólon