

AO 1720**Efeito do silenciamento de Oct4 na formação de teratomas**

Emilly Schlee Villodre; Karina Bettega Felipe; Mayumi Oyama; Francine Hehn de Oliveira; Patrícia Luciana da Costa Lopez; Guido Lenz - UFRGS

A formação de células pluripotentes induzidas (iPS) a partir de células adultas envolve a expressão de quatro fatores de transcrição: Oct4, Klf4, Sox2 e c-Myc. Durante esse processo há formação de teratomas (crescimentos malignos) que impedem o uso clínico dessas células. Oct4 parece ser o mais importante fator de reprogramação, além de importante na diferenciação celular e na manutenção do pool de células pluripotentes. A linhagem celular P19 (teratocarcinoma de camundongo) é usada como modelo de iPS, principalmente para avaliar a capacidade tumorigênica dessas células. O objetivo do presente trabalho é estabelecer a importância do fator de transcrição Oct4 na formação e desenvolvimento de teratomas. A metodologia empregada foi o silenciamento gênico via shRNA (através de diferentes sequências). A redução da expressão de Oct4 foi avaliada através de Western Blot. Foram obtidas duas linhagens silenciadas (P19i-1 e P19i-2), uma delas (P19i-2) teve Oct4 indetectável pela técnica. Para avaliarmos a proliferação das células silenciadas foi utilizado o método de Cumulative Population Doubling (CPD), em que 500 células foram plaqueadas e contadas em hemocítmetro ao longo de 20 dias. Para avaliar o desenvolvimento tumoral, células P19 controles e silenciadas foram inoculadas subcutaneamente no flanco de camundongos nude. Após a retirada do tumor, a presença de tecidos derivados dos três folhetos embrionários foi analisada através de lâminas coradas com HE. Os resultados do CPD demonstram que a ausência de Oct4 não afetou a capacidade proliferativa das células. Os tumores gerados em camundongos nude com células P19i-1 até o momento, não apresentaram necrose e células indiferenciadas e diferenciação nos três folhetos, de acordo com as análises histológicas preliminares. Os tumores obtidos das células P19i-2 apresentaram necrose e células indiferenciadas, além de apresentar células de ectoderme em uma das amostras (resultado semelhante ao observado com as linhagens controles). Essa estratégia inibe a formação de teratomas e pode elucidar as semelhanças do processo de diferenciação celular e a evolução da malignidade tumoral. Isso é importante visto que a indução de iPS, entre outras perspectivas, visa oferecer novas possibilidades terapêuticas que precisarão antes de uma importante avaliação quanto ao potencial tumorigênico. Unitermos: Teratoma; Oct4; iPS