

## ESTABELECIMENTO DE SISTEMA DE CULTURA DE FIBROBLASTOS FETAIS SUÍNOS

Andressa Pereira de Souza<sup>1</sup>, Mariana Groke Marques<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doutoranda em Ciência Animal pela Universidade do Estado de Santa Catarina, Campus Lages, [dressaps\\_souza@hotmail.com](mailto:dressaps_souza@hotmail.com)

<sup>2</sup>Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

**Palavras-chave:** cultura celular, feto suíno, cultivo *in vitro*, DMEM.

### INTRODUÇÃO

O cultivo de tecidos existe há cerca de 100 anos (1), e pode ser definido como um conjunto de procedimentos que permite o isolamento, manutenção e proliferação de células em sistemas *in vitro* sob condições controladas (2). A cultura celular vem sendo utilizada com sucesso em diferentes áreas e apresenta inúmeras aplicações, de produção de vacinas a biotecnologias reprodutivas (3; 4), avanços que só se tornaram possíveis a partir do estabelecimento de sistemas de cultivo específicos para cada tipo celular. Nesse contexto o objeto deste trabalho foi estabelecer um sistema de cultivo de fibroblastos fetais suínos eficiente.

### MATERIAL E MÉTODOS

Fetos suínos de aproximadamente 50 dias de idade foram obtidos em abatedouro e transportados em frascos estéreis até o laboratório. Sob fluxo laminar, os fetos foram retirados do saco amniótico e transferidos para placas de petri estéreis. Fragmentos de pele foram removidos assepticamente e lavados 3 vezes em PBS com antibiótico (50 UI/mL de gentamicina) em seguida foram cortados em pequenas frações de 2 a 3mm e transferidos para placas de Petri (35mm) cobertas com 2 ml de meio de cultura (DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 50 UI/mL de gentamicina). As placas foram incubadas a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub> em ar e alta umidade. Após a 5 dias de cultivo, foi adicionado 1 ml do meio de cultura fresco em cada placa, tomando o cuidado para não descolar as frações do fundo da placa de Petri. Ao observar aproximadamente 40% de confluência, as frações de fragmento foram retiradas cuidadosamente. A identificação dos fibroblastos foi realizada através avaliação morfológica através de microscopia óptica. Os fibroblastos permaneceram em cultivo até atingirem aproximadamente 90% de confluência, quando foram tratados com tripsina (tripsina 0,1%, EDTA 0,025% em PBS sem cálcio e magnésio) e replaqueados sucessivamente até atingir a 3º passagem, sendo congelados em meio contendo DMEM, suplementado com 20% de SFB e 10% de dimetilsulfoxido (DMSO).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sucesso da cultura de células, baseia-se principalmente na realização de um procedimento asséptico, uma vez que cerca de 70% dos problemas que surgem no cultivo são devidos a contaminações (5), o que foi rigidamente mantido durante o estabelecimento da cultura. Além disso, a utilização fetos suínos pode ter minimizados a probabilidade de contaminação, visto que os fetos estavam envolvidos pelo saco amniótico, que proporciona um ambiente estéril aos tecidos. O meio nutritivo também é determinante para o cultivo celular, sendo que a escolha do meio de cultivo varia de acordo com o tipo celular a que se destina, por ser altamente específico, e em muitos casos precisa ser adaptado para cada tipo celular (6). Neste trabalho foi as células mostram fácil adaptação às condições de crescimento estipuladas, ademais, as células fetais tem alta capacidade de replicação e de diferenciação celular, o que pode ter contribuído para rápida proliferação celular.

### CONCLUSÕES

O protocolo utilizado no estabelecimento da cultura de fibroblastos fetal foi eficiente para obtenção, manutenção e proliferação celular.

### REFERÊNCIAS

1. CURI, R.; PERES, C. M. Como cultivar células. 1th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1. p. 283, 2005
2. AMARAL, J. B.; MACHADO-SANTELLI, G. M. A cultura de células em 3 dimensões e a sua aplicação em estudos relacionados a formação do lúmen. *Naturalia*, Rio Claro, v. 34, p.1-20, 2011.
3. BARBOSA, B. S.; SANTOS, F. A.; PIMENTEL, M. M. L.; FERNANDES, D. P.; PREXEDES, E. A.; BEZERRA, M. B. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v.9, n.2, p. 334-347, 2015.
4. FRESHNEY, R. I. *Culture of animal cells: A manual of basic technique*. 4 ed. New York: Wiley-Liss, 1995.
5. FRESHNEY, R. I. *Culture of animal cells – A manual of basic technique*. 2ed. Alan R Liss, Inc.; New York, 1987
6. ALVES, E. A.; GUIMARÃES, A. C. R. Cultivo celular. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. *Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde*. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio/fundação Oswaldo Cruz, 2010. Cap. 5. p. 215 - 253.



**Figura 1.** Feto suíno de aproximadamente 50 dias de idade, envolto pelo saco amniótico.



**Figura 2.** Retirada de fragmento de pele de feto suíno.