

Estabelecimento da cultura de células endoteliais progenitoras circulantes a partir do sangue periférico

Tatiana Mary Sakamoto¹, Carolina Lanaro², Margareth Castro Ozelo², Nicola Conran², Fernando Ferreira Costa².

¹Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

²Centro de Hematologia e Hemoterapia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.

As células endoteliais exercem grande variedade de funções como manutenção do tônus vascular, hemostasia, participação na resposta inflamatória e na angiogênese. A ativação, lesão ou disfunção endotelial dessas células podem contribuir em diversos mecanismos fisiopatológicos de doenças como aterosclerose, diabetes e a anemia falciforme (AF). As células endoteliais progenitoras circulantes ou como serão denominadas neste estudo _ Blood Outgrowth Endothelial Cells (BOECs) _ são células endoteliais com características de células endoteliais maduras. As BOECs, assim como as Células Endoteliais Progenitoras precoces (CEPs), podem ser isoladas do sangue periférico por meio de cultura *in vitro*, e ambas células estão presentes em baixo número dentre as células mononucleares (0,1-0,01%). Diversos estudos indicam as BOECs como candidatas à regeneração vascular, biomaterial na terapia gênica e modelo no estudo fisiopatológico de doença vascular. Assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer a cultura de BOEC para servir como modelo de estudo *in vitro* do sistema endotelial de pacientes com AF. Participaram da pesquisa pacientes com diagnóstico de anemia falciforme (N=15) e indivíduos saudáveis (N=14) com padrão eletroforético e índices hematológicos normais. O estabelecimento da cultura de células BOECs foi baseado no protocolo de Lin et al. (2000). A partir do sangue periférico foi isolada uma camada de células mononucleares e estas foram cultivadas em meio específico para células endoteliais. As culturas positivas para BOECs (N=13) apresentaram na primeira semana da cultura o surgimento de CEPs, com o formato de *spindle-shaped* que desapareceram ao longo da cultura; as primeiras colônias de BOECs surgiram em torno de 9 a 21 dias de cultura, com a morfologia característica de células endoteliais maduras, denominada de *cobblestone*. Após três passagens das células, obteve-se uma quantidade suficiente de células para fazer a caracterização destas por citometria de fluxo utilizando marcadores específicos (CD31, CD105, CD146, KDR, CD144). Esta pesquisa confirmou a possibilidade de se estabelecer a cultura de BOECs de pacientes com AF e de indivíduos saudáveis. O estabelecimento da cultura foi complexa, de longa duração e com 50% de sucesso de estabelecer culturas positivas para BOECs. No entanto, as BOECs possuem vantagens a serem utilizadas em estudos por possuírem alta capacidade proliferativa, fenótipo de célula endotelial madura estável por várias passagens durante o cultivo e a possibilidade de utilizar tratamentos com drogas. Diante do estabelecimento da cultura de BOECs de pacientes com AF e das características destas células, sugere-se que as BOECs podem ser utilizadas como modelo de estudo *in vitro* da anemia falciforme, isto é, na ausência de vaso-oclusão e inflamação crônica presentes na doença.

Palavras-chave: BOEC; anemia falciforme; cultura de células

Apoio Financeiro: FAPESP e CNPq.