



PADRONIZAÇÃO DE CULTIVO DE LINFÓCITOS HUMANOS PARA ANÁLISE DE CARIÓTIPO

Michael Krik Zancani¹; Ana Sarah Arana Gonçalves²; Clarissa Torresan³; Marcela Funaki dos Reis⁴

¹Acadêmico de Ciências Biológicas, UNICESUMAR, Maringá-PR. Programa de Iniciação Científica da UniCesumar (PIC).

²Acadêmica de Biomedicina, UNICESUMAR, Maringá-PR.

³Coorientadora, Profa. Dra. do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UNICESUMAR, Maringá-PR. ⁴Orientadora, Profa. Dra. do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UNICESUMAR, Maringá-PR.

RESUMO: O método de cultivo celular permite a manutenção de células vivas *in vitro* onde exemplares de células isoladas desenvolvem-se fora de seu habitat natural e com isso garantiu grandes avanços na área das pesquisas biológicas, permitindo que estudos experimentais anteriormente restritos a apenas modelos vivos adquirissem novas perspectivas. O cultivo celular é um recurso valioso utilizado tanto na área da pesquisa biomédica quanto para a biotecnologia em geral, além do diagnóstico de doenças genéticas por meio do cariótipo. Nesse sentido, para que uma cultura celular possa ser efetiva para os fins que se destina a padronização dos parâmetros do cultivo precisam ser estabelecidos de maneira sistematizada. Assim, levando em consideração os benefícios do uso de uma cultura de células e os parâmetros de cultivo necessários para a realização desse procedimento, o presente estudo busca padronizar o método de cultivo de linfócitos humanos a fim de contribuir para a realização dos exames de cariótipo utilizados no diagnóstico de cariopatias. Para isso, serão coletadas amostras sanguíneas de 10 indivíduos fenotipicamente não síndrômicos e maiores de 18 anos que aceitem participar do estudo. Para iniciar o cultivo de linfócitos será comparado o uso de sangue total, plasma com linfócitos separados por sedimentação natural em decantação e linfócitos obtidos por centrifugação. Estas amostras serão transferidas para o meio RPMI 1610 suplementado pelo fornecedor com aminoácidos e antibióticos, acrescido de fitohemaglutinina e soro fetal bovino. Com relação volume de fitohemaglutina, serão testados os volumes indicados pelo fornecedor buscando padronizar o volume que promove o melhor estímulo a mitose dos linfócitos. Para tanto serão comparados os volumes de 100 µL, 150 µL e 200 µL de fitohemaglutina. As culturas de linfócitos serão cultivadas por 71 horas e 30 minutos em estufa à 37°C. Para avaliar a taxa de crescimento dos linfócitos nos parâmetros que serão testados será realizada a contagem direta em hemocitômetro e construída curva de crescimento em função do tempo de cultivo. Para tanto a contagem direta de linfócitos será realizada antes do cultivo (tempo zero), 24, 48 e 72 horas. As variáveis testadas serão realizadas em triplicatas e os resultados serão analisados estatisticamente com o auxílio do Software Statistica 8.0. Para a comparação das variáveis testadas será utilizado ANOVA e o teste do χ^2 para verificação de associação. O nível de significância adotado será de 5%, ou seja, serão consideradas significativas as associações cujo $p < 0,05$. Espera-se ao término desta pesquisa estabelecer os parâmetros necessários para o cultivo de linfócitos humanos e com isso padronizar esta técnica para fins de diagnóstico por meio de cariótipo.

PALAVRAS-CHAVE: Cariótipo Humano; Cultivo Celular; Genética Médica.