

*Padrão Resposta Preliminar às Questões Discursivas
Biólogo – Biotecnologia/Terapia Celular*

Questão 1

- a)** 1 - Células que apresentam aderência ao plástico no ambiente *in vitro*;
2 - Apresentam diferenciação *in vitro* em osteócitos, adipócitos e condrócitos;
3 - Apresentam expressão de antígenos de superfície característicos como o CD105, o CD73 e o CD90.
- b)** 1 - Sangue de cordão umbilical;
2 - Veia umbilical;
3 - Veia safena;
4 - Parede das artérias;
5 - Fígado fetal;
6 - Pâncreas fetal;
7 - Placenta;
8 - Polpa dentária;
9 - Líquido amniótico;
10 - Sangue menstrual;
- c)** 1 - Coleta de amostra de tecido adiposo em uma placa de Petri contendo PBS, em capela de fluxo laminar;
2 - Dissociação enzimática com collagenase (Tipo I, Tipo II ou Tipo A) em incubações (com ou sem agitação suave) a 37°C por 45 a 50 minutos;
3 - Filtração da suspensão com filtro de 60 a 100µm (dependendo da espécie);
4 - Inibição da ação da enzima com adição de meio completo (DMEM,DMEM-F12 ou α-MEM rico em glicose com 20% de soro fetal bovino);
5 - Centrifugação 200x g por 10 min;
6 - Desprezar o sobrenadante e ressuspender em meio completo;
7 - Verificar a viabilidade com azul tripan e contar as células;
8 - Plaquare e manter as células com troca de meio a cada 2-3 dias até atingirem confluência de 70-80%.
- d)** Os indutores para diferenciação osteogênica são: ácido ascórbico, dexametasona, glicerofosfato, BMP-2 e vitamina D3.

Questão 2

- a) CTH de longa duração (LT-HSC, do inglês *long-term* HSC) com elevado potencial de autorrenovação e CTH de curta duração (ST-HSC, do inglês *short-term* HSC).
- b) 1ª - consiste na obtenção das células mononucleares CD 34+;
2ª - envolve o cultivo dessas células em meio semissólido de metilcelulose enriquecido em fatores de crescimento como SCF, GM-CSF, IL-3, IL-6 e eritropoietina;
3ª - inclui a contagem e a identificação do número e dos tipos de colônias após 7 a 10 dias de cultivo a 37°C.
- c) 1 - coletar a medula com a injeção de meio de cultura no canal medular dos fêmures e tíbias dos animais eutanaziados ou por rápida centrifugação do osso;
2 - colocar a medula em tubo cônico em meio sem soro e dissociá-la com pipeta Pasteur;
3 - aplicar essa solução lentamente sobre Histopaque e centrifugar por 25 minutos a 450xg;
4 - recolher o anel formado na interface Ficoll-medula correspondente às células mononucleares;
5 - lavar três vezes com PBS, ressuspender o sedimento de células em 1 ml de meio de cultura, contar e verificar a viabilidade celular com azul tripan.
- d) 1- Tratamento de doenças cardíacas;
2- Cirrose;
3- Acidente vascular cerebral (AVC);
4- Esclerose múltipla;
5- Diabetes tipo I;
6- Algumas anemias.

Questão 3

- a) Angiogênese: processo no qual novos vasos são formados a partir da ativação, proliferação e migração de células endoteliais que constituem vasos preexistentes, tanto no embrião quanto no adulto.
- Vasculogênese: processo em que precursores endoteliais, denominados angioblastos, migram, proliferam e se diferenciam em células endoteliais, formando o plexus vascular primitivo e novos vasos no embrião.
- Vasculogênese pós-natal: processo em que células progenitoras são recrutadas da medula óssea, contribuindo para a formação de novos vasos em adultos.

- b)** 1 - Mobilização das EPCs da medula óssea para circulação sanguínea;
2 - “*Homing*” para o tecido a ser reparado, direcionado por sinais como citocinas, fatores de crescimento, quimiocinas e hipóxia;
3 - Invasão do tecido e migração (adesão ao endotélio e migração transendotelial);
4 - Diferenciação em células endoteliais maduras.
- c)** 1 - Estas células podem ser isoladas do sangue periférico do próprio paciente para serem utilizadas em um transplante autólogo, o que reduz os riscos de infecção e rejeição.
2 - Estas células podem ser isoladas uma única vez e, mesmo em pequenas quantidades, podem ser expandidas *in vitro*, gerando uma quantidade celular suficiente, que pode ser cultivada e estocada para serem utilizadas ao longo de toda a vida do paciente.

Questão 4

- a)** As células ES podem ser obtidas da massa celular interna de blastocistos.
Para manter seu estado pluripotente e indiferenciado em cultura, as células ES devem ser mantidas na presença do fator inibidor de leucemia (LIF).
- b)** São agregados de células ES programadas para se diferenciar e são formados quando essas células são cultivadas em suspensão e na ausência de alguns fatores importantes (LIF ou camadas de fibroblastos).
- c)** Vantagem: As células ES têm a vantagem de poderem se diferenciar em uma ampla gama de tipos celulares e, em teoria, poderiam ser utilizadas na reparação de qualquer tecido.
Desvantagem: Células-tronco de um embrião doador não aparentado poderiam causar reações imunológicas de rejeição. Devido ao alto potencial proliferativo e sua pluripotencialidade, é alto o risco de formação de tumores embrionários (teratocarcinoma). Problemas éticos relacionados à destruição do blastocisto.
- d)** Esse método permite criar uma célula pluripotencial a partir de uma célula somática. O núcleo de uma célula adulta é retirado e transferido para um oócito do qual o próprio núcleo foi removido. Essa célula híbrida pode ser estimulada a se dividir, originando uma massa celular semelhante à blástula de um embrião normal. Dessa massa celular podem ser retiradas células que, sob condições apropriadas, diferenciam-se em muitos (ou todos) tecidos do organismo.
Vantagem: geração de células ES do tipo de tecido do próprio paciente (que serviria como doador da célula somática). O blastocisto gerado poderia ser utilizado como fonte de células ES, que poderiam ser mantidas em cultura e que não causariam rejeição imunológica quando implantadas no paciente.

Questão 5

- a)** 1 - Cordão umbilical;
2 - Medula óssea;
3 - Células residentes em tecidos (pequenos vasos presentes no músculo, fígado, tecido adiposo, progenitores cardíacos e neurais).
- b)** 1 - Lymphoprep;
2 - Histopaque 1077;
3 - Ficoll-Hipaque;
4 - Percoll.
- c)** Fração A - Plasma (pode conter plaquetas);
Fração B - Células mononucleares (monócitos e linfócitos);
Fração C - Células vermelhas (hemácias) (pode conter granulócitos);
Fração onde estão as EPCs: B.
- d)** CFU Hill (método de Hill): Processo em que as células mononucleares obtidas do sangue periférico são plaqueadas sobre fibronectina por 48 horas e, em seguida, as células não aderentes são replaqueadas por 4-9 dias até o aparecimento de colônias, que são constituídas por células arredondadas e fusiformes, as quais possuem características hematopoiéticas.
ECFC (método de Lin): Processo em que células mononucleares obtidas do sangue periférico são plaqueadas sobre colágeno por 14-21 dias até o aparecimento de colônias constituídas por células altamente proliferativas, com morfologia poliédrica. São células capazes de formar novos vasos sanguíneos.