

CULTIVO DE CÉLULAS PRIMÁRIAS DE FÍGADO DE EMBRIÃO DE *GALLUS GALLUS DOMESTICUS*: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA NA INICIAÇÃO CIENTÍFICA

JOÃO VITOR DE SOUZA GERINGER¹; GABRIEL DA SILVA ZANI²; FLÁVIA BARTZ NUNES³; IZADORA DUMMER WEBER⁴; VICENTE BARISCH OTT⁵;

SILVIA DE OLIVEIRA HÜBNER⁶;

¹Universidade Federal de Pelotas – joaogeringer@gmail.com 1

²Universidade Federal de Pelotas – gzani27@gmail.com 2

³Universidade Federal de Pelotas – flaviabartznunes8@gmail.com 3

⁴Universidade Federal de Pelotas – izadoradw@gmail.com 4

⁵Universidade Federal de Pelotas – vbott2004@gmail.com 5

⁶Universidade Federal de Pelotas – silviaohubner@gmail.com 6

1. INTRODUÇÃO

O cultivo celular *in vitro* permite manter as células e estudar o seu comportamento fora do organismo. Para se realizar cultivo de células é necessário o estabelecimento de técnicas adequadas. Trata-se de isolamento de células eucarióticas de um determinado tecido (animal ou vegetal), da manutenção da sua viabilidade e proliferação em um sistema *in vitro* constituído de nutrientes e fatores essenciais à sobrevivência, sob condições controladas de temperatura, pH e osmolaridade (BARBOSA et al., 2015).

Uma cultura primária é estabelecida a partir de células oriundas de um fragmento de tecido obtido por desagregação mecânica ou enzimática. As células que conseguirem sobreviver ao processo de desagregação e aderirem formarão a primeira monocamada de células daquele tecido. Essas células possuem as características do tecido de origem, podem crescer em cultura por um determinado período de tempo e são denominadas células primárias. Essa forma de cultivo é a mais utilizada para estudar o comportamento de determinada célula *in vitro*, devido à manutenção de suas características genotípicas e fenotípicas (ALVES; GUIMARÃES, 2010). Além disso, experimentos com células *in vitro* continuam sendo bastante realizados em pesquisas no mundo inteiro, tendo em vista que apresentam muitas vantagens em seu uso, pois são mais fáceis de controlar, apresentam amostras homogêneas, são mais econômicos do que os modelos *in vivo* e compreendem o principal modelo utilizado como alternativa para substituir ou diminuir a utilização de animais em diferentes pesquisas (ARANGO et al., 2013).

Em virologia, o cultivo celular é importante para estudar diversas características de infecções virais, tais como sua replicação, mecanismos patogênicos, diagnóstico, além de ser essencial para o desenvolvimento de vacinas e testes antivirais. Como os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, eles não conseguem se replicar fora de células vivas, sendo por isso, necessário o cultivo celular para sua multiplicação. Dessa forma, realizar metodologias de cultivo celular dentro da iniciação científica é um meio didático para obtenção de aprendizado e experiência. Entende-se por “iniciação científica” um processo inicial da formação do pesquisador em sua fase preliminar da busca pela informação de forma sistemática, bem como na elaboração de métodos e apresentação de suas pesquisas (MASSI; QUEIROZ, 2015). Esse conceito vai de

acordo com a frase de Paulo Freire “ensinar não é transferir conhecimento, mas criar as possibilidades para a sua própria produção ou a sua construção”.

Esse trabalho é o relato de experiência que descreve parte da minha trajetória percorrida como estagiário no laboratório de Virologia e Imunologia da UFPEL, o que contribuiu para a formação profissional na área pretendida, da pesquisa em virologia.

2. ATIVIDADES REALIZADAS

Na execução das atividades, o processo de ensino-aprendizagem foi conduzido por um discente do doutorado através da demonstração do seu protocolo de experimentação. O objetivo da atividade foi proporcionar prática, conhecimento e habilidade com o trabalho de cultivo celular em laboratório, desenvolvendo noções em biossegurança, cultivo e de manejo de embrião em experimentação para pesquisa.

O processo iniciou-se com a incubação dos embriões de galinha por 14 dias a 37 °C. Após esse período, os embriões foram retirados da incubadora e colocados no freezer por 40 minutos, para fazer a dessensibilização. Em seguida, em fluxo laminar, os embriões foram removidos dos ovos com auxílio de material cirúrgico, sendo coletados e transferidos para uma placa de Petri. Seguindo o protocolo, foi feita incisão da pele na cavidade abdominal e com auxílio de uma pinça foi coletado o fígado, que foi removido e transferido para o Corning® cell strainer, a fim de ser macerado para individualização das células. Durante o processo de maceração, foram adicionados 5 ml de meio à placa para ressuspensão. Após isso, o material foi transferido para um tubo Falcon, homogeneizado com movimentos de up/down e centrifugado por 10 minutos a 1,5 rpm, repetindo-se esse processo três vezes. O sobrenadante foi então descartado e substituído por meio novo. Foram adicionados 4 ml de meio fresco, homogeneizados novamente, e a suspensão celular foi transferida para uma garrafa de cultivo, à qual se acrescentou 0,5 ml de soro fetal bovino. Por fim, as células foram observadas ao microscópio óptico para conferência da viabilidade e integridade. O cultivo foi acompanhado diariamente e após 2 dias pôde ser observada a formação de um tapete confluyente, como pode ser visto na figura 1.

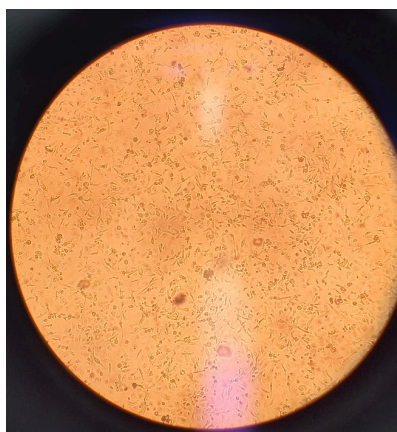


Figura 1: Células hepáticas obtidas de embrião de galinha após dois dias de cultivo *in vitro* observadas em microscopia. Aumento x0.25.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do cultivo de células primárias de fígado de embrião de *Gallus gallus domesticus* proporcionou uma experiência prática valiosa, reforçando conhecimentos teóricos sobre biossegurança, manipulação celular e técnicas laboratoriais aplicadas à pesquisa em virologia. O contato direto com o protocolo experimental permitiu compreender, de forma aplicada, os princípios do cultivo celular e sua importância como ferramenta alternativa ao uso de modelos animais. Além disso, a atividade favoreceu o desenvolvimento da autonomia investigativa e da formação crítica, contribuindo significativamente para a minha capacitação na área da pesquisa clínica. Esses resultados evidenciam o papel essencial da iniciação científica na construção de uma base sólida para futuras trajetórias acadêmicas e profissionais no campo da biotecnologia e ciências da saúde.

Conforme a frase do pedagogo Larrosa Bondía “É experiência aquilo que “nos passa”, ou que nos toca, ou que nos acontece, e ao nos passar nos forma e nos transforma. Somente o sujeito da experiência está, portanto, aberto à sua própria transformação”, essa atividade foi uma experiência que acrescentou conhecimento para a formação profissional e contribuiu para ampliar o interesse no envolvimento com pesquisa.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Artigos

MASSI, L., and QUEIROZ, SL., orgs. Iniciação científica: aspectos históricos, organizacionais e formativos da atividade no ensino superior brasileiro [online]. São Paulo: Editora UNESP, 2015, 160 p. ISBN 978-85-68334-57-7. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

RIBATTI, Domenico; ANNESE, Tiziana. Chick embryo in experimental embryology and more. Pathology Research and Practice, v. 245, p. 154478, 2023.

DOI: 10.1016/j.prp.2023.154478;

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0344033823001784>

Livro

Cultivo de células: da teoria à bancada / Juan Carlos Ramos Gonçalves, Marianna Vieira Sobral (organizadores). - João Pessoa : Editora UFPB, 2020.

CAMILLO, C.M.; Teorias da educação [recurso eletrônico] / Cíntia Moralles Camillo, Liziany Müller Medeiros. – Santa Maria, RS : UFSM, NTE, 2018. 1 e-book : il.

Biologia molecular da célula [recurso eletrônico] / Bruce

Alberts ... [et al.] ; tradução: [Ardala Elisa Breda Andrade... et al.] ; revisão técnica: Ardala Elisa Breda Andrade, Cristiano Valim Bizarro, Gaby Renard. – 6. ed. – Porto Alegre : Artmed, 2017. Editado como livro impresso em 2017. ISBN 978-85-8271-423-2

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. Manual de Biossegurança Laboratorial. Quarta Edição. Versão oficial em português da obra original em Inglês. Laboratory biosafety manual, fourth edition. OPAS, 2021.

Virologia veterinária / Eduardo Furtado Flores (organizador). – Santa Maria : Ed. da UFSM, 2007. 888 p. ; 30 cm. 1. Medicina veterinária 2. Virologia I. Flores, Eduardo Furtado

Resumo de Evento

DARZYNKIEWICZ, Z.; BEDNER, E.; SMOLEWSKI, P. Flow cytometry in analysis of cell cycle and apoptosis. Seminars in Hematology, v. 38, n. 2, p. 179-193, 2001.

Capítulo de livro

SOEIRO, M. Z. C.; PEREIRA, M. E. C. Programa de Capacitação em Biossegurança do Instituto Oswaldo Cruz: o impacto na qualidade de vida do profissional. In: COSTA, M. A. F.; COSTA, M. F. B. Biossegurança de OGM: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Publit; 2009. p. 358-371.