

Uma nova perspectiva para o estudo da Síndrome de QT longo: geração de células-tronco pluripotentes induzidas paciente-específicas

FERNANDO EUGENIO DOS SANTOS CRUZ FILHO, TAIS HANAE KASAI BRUNSWICK, DAYANA S ARAÚJO, FERNANDA CRISTINA PACCOLA MESQUITA, GLAUBER MONTEIRO DIAS, JORGE LUIZ COUTINHO, ANTONIO CARLOS CAMPOS DE CARVALHO e ADRIANA BASTOS CARVALHO

Instituto Nacional de Cardiologia, Rio de Janeiro, RJ, BRASIL - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, BRASIL.

Introdução: A Síndrome do QT Longo (SQTL) é uma canalopatia cardíaca genética, de caráter familiar, com presença marcante de morte súbita por arritmias ventriculares em pacientes com coração estruturalmente normal. O processo de reprogramação celular a partir de células somáticas de pacientes SQTL permitirá o estudo da fisiopatologia da doença e de sua resposta específica a drogas, abrindo caminhos para a medicina personalizada. O objetivo deste trabalho é a geração de células-tronco pluripotentes induzidas (iPS) paciente-específicas a partir de sangue periférico utilizando vetores virais contendo os fatores de transcrição OCT4, SOX2, KLF4 e c-MYC.

Métodos: Amostras de pacientes com suspeita clínica de SQTL foram genotipadas para mutações nos genes KCNQ1 e KCNH2. Isolamos células mononucleares de sangue periférico (CMSP) de doadores saudáveis e de pacientes com confirmação genética de SQTL. CMSP foram cultivadas em meio de expansão específico para enriquecimento em eritroblastos. A coexpressão de CD36 e CD71 foi avaliada por citometria de fluxo e realizada a transdução com vírus Sendai, (um vírus de RNA não-integrante contendo os fatores de transcrição OCT4, SOX2, c-MYC e KLF4). Após 21 dias as primeiras colônias de iPS geradas foram selecionadas, expandidas e genotipadas. O perfil pluripotente das iPS foi avaliado por RT-PCR e citometria de fluxo. A euploidia das iPS foi avaliada por cariotipagem.

RESULTADOS: Foram reprogramadas 4 amostras, obtendo-se duas linhagens de doadores saudáveis e duas de pacientes com SQTL tipo 2 portando a mutação c.1600C>T. A presença de progenitores eritóides com a dupla-marcação para CD36 e CD71 foi quantificada por citometria de fluxo após 12 dias de cultivo, onde obtivemos $90,28 \pm 3,81\%$ (n = 6). As colônias apresentaram uma morfologia iPS-like e surgiram entre os dias 15 e 20 após a transdução. As iPS apresentam 46 cromossomos, expressam mRNA (OCT4, NANOG, SOX2, KLF4, DNMT3B, REX1, GDF3, TERT, Lin28 e NODAL) e proteínas relacionados ao perfil pluripotente (OCT-4, SOX-2, NANOG, TRA1-60 e TRA1-81).

CONCLUSÃO: A coleta de apenas uma pequena amostra de sangue periférico mostrou-se suficiente para a geração de iPS com cariótipo normal e características de células pluripotentes. Os próximos passos serão diferenciar as iPS em cardiomiócitos para a realização de estudos de modelagem do SQTL *in vitro* comparando as respostas eletrofisiológicas a diferentes drogas nos cardiomiócitos paciente-específicos gerados.