

PESQUISA MOVIMENTA INOVAÇÃO. INOVAÇÃO MOVIMENTA O FUTURO.

XXVIII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES E
X MOSTRA ACADÊMICA DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

07 e 08 de OUTUBRO de 2020
UCS CAMPUS-SEDE - CAXIAS DO SUL



UCS
UNIVERSIDADE
DE CAXIAS DO SUL
PESSOAS EM
MOVIMENTO

Comparação de cultivo celular 2D versus 3D da linhagem BIC-UCS tumoral Hep-2 tratada com extrato de própolis vermelha.

Wellington Vieira de Souza (BIC-UCS), Caroline Olivieri da Silva Frozza, João Antonio Pêgas Henriques e Mariana Roesch Ely (orientador (a)).

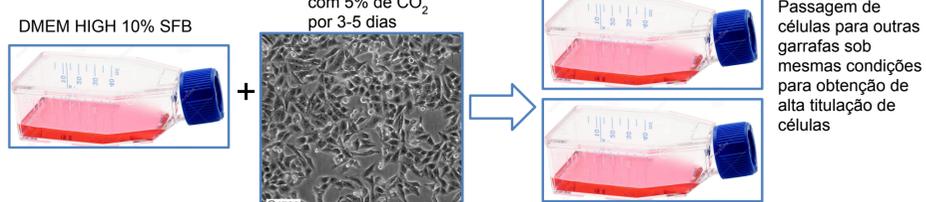
Laboratório de
Genômica,
Proteômica e Reparo
do DNA

INTRODUÇÃO / OBJETIVO

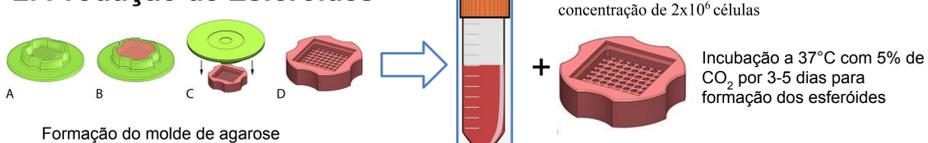
O estudo in-vitro utilizando a cultura celular 2D se tornou indispensável para a compreensão do comportamento citológico frente a determinadas substâncias. Entretanto, a cultura bidimensional possui restrições quanto ao seu crescimento, não demonstrando um ambiente igualitário que ocorre *in vivo*. Por esse motivo, a cultura celular 3D se tornou um forte concorrente de metodologia, chegando a um resultado mais aproximado da realidade. Este trabalho buscou comparar a viabilidade celular da linhagem Hep-2 em um ambiente 2D versus 3D, tratada com própolis vermelha, um composto com variadas atividades biológicas como atividade antitumoral.

EXPERIMENTAL

1. Cultivo Celular



2. Produção de Esferóides



3. Análise



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível visualizar através da microscopia eletrônica de varredura, as células individualmente (2D) aderidas a parede, com uma circunferência variando de 3,8 µm até 4,8µm, e os esferóides (3D) com uma circunferência variando de 121,0µm até 191,3µm. É notável também a presença de rugosidade no citoplasma das células no esferóide, evidenciando uma melhor análise neste modelo. Enquanto as células 2D foram tratadas somente com meio, no modelo 3D as células foram tratadas com fração J (25µg/ml), etanol 2,5%, biochanina (25µg/ml), DMSO 10% e meio. Visualmente houve uma grande diferença de integridade dos esferóides tratados somente com meio, até uma ruptura total do esferócito em DMSO.

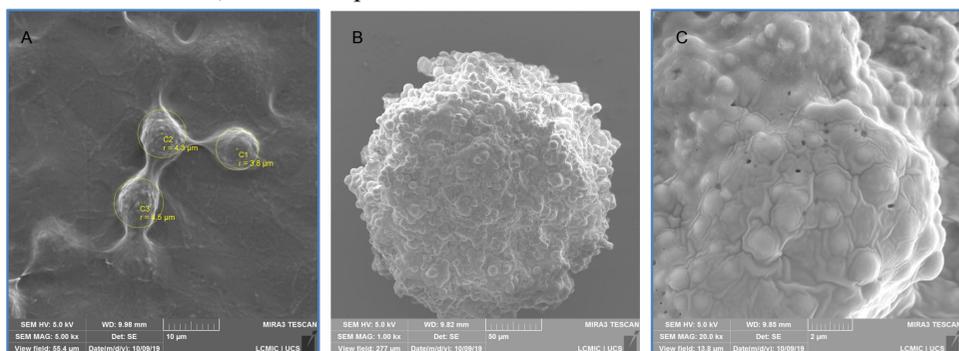


Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura realizado no Laboratório Central de Microscopia (LCMIC), A: Células 2D sem tratamento; B: Esferóide (3D) tratado com Etanol 2,5% em aumento de 1Kx; C: Esferócito (3D) tratado com meio de cultura em aumento de 10Kx.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio de citometria foram realizadas as seguintes comparações, entre os modelos 3D e 2D: tratamento com o solvente etanol 2,5 % (controle negativo); tratamento com o solvente DMSO 10% (controle positivo); tratamento com a fração mais citotóxica (Fração J) e tratamento com o padrão mais citotóxico (Biochanina A).

Analisando os resultados podemos observar que no controle negativo, a cultura 2D em sua grande maioria se manteve viável, o que já era esperado uma vez que sua concentração 2,5% já era encontrada na literatura para outros testes. Porém no modelo 3D, houve um acréscimo de apoptose tardia/necrose ressaltando a maior sensibilidade deste modelo. O mesmo ocorreu no controle positivo, onde o modelo 2D obteve uma maior quantidade de células viáveis do que o modelo 3D. Nos tratamentos em que foram utilizados o padrão Biochanina A, foi observado no modelo bidimensional na concentração de 50 µg/mL um aumento considerável de células em apoptose tardia/necrose, o que pode ser evidenciado na morfologia celular (figura 2). No tratamento com a fração mais citotóxica não houve grande diferença entre as concentrações testadas em ambos modelos, tridimensional e bidimensional (figura 3).

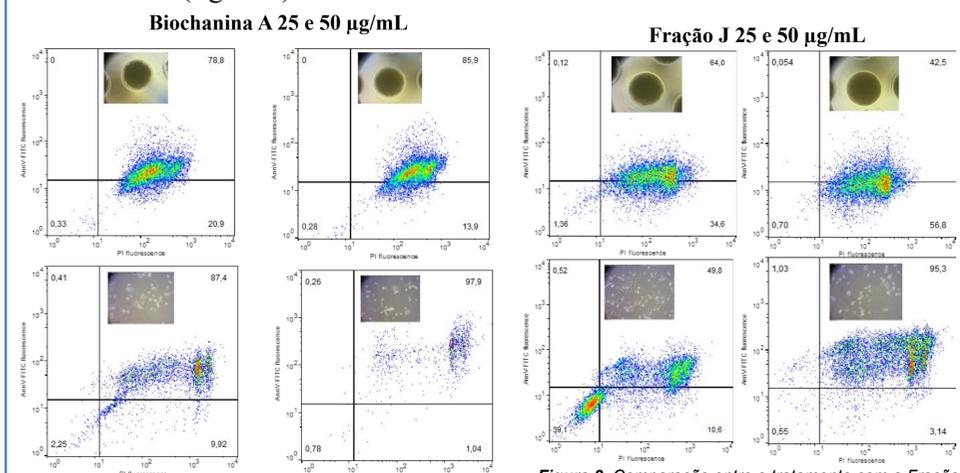


Figura 2: Comparação entre o tratamento com Biochanina A, nas concentrações de 25 e 50 µg/mL nos modelo 3D e 2D. As porcentagens de células com anexina-V positiva e PI-negativo no estágio inicial de apoptose e de células com anexina-V positiva e PI positiva, que estão mortas ou em apoptose tardia, estão representadas em cada quadrante.

CONCLUSÕES

A atividade antitumoral do extrato e das frações da própolis vermelha está relacionada em partes a indução de apoptose, conforme os resultados obtidos. Segundo as análises realizadas fica visível a maior sensibilidade do modelo 3D frente ao modelo 2D. Contudo, por se tratar de amostras complexas, onde outros compostos podem estar atuando, outros mecanismos também podem estar envolvidos. Desta forma, novos ensaios são necessários para que todos os mecanismos de ação envolvidos sejam esclarecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FROZZA, CAROLINE OLIVIERI DA SILVA; SANTOS, DENIS AMILTON; RUFATTO, LUCIANE CORBELLINI; MINETTO, LUCIANE; SCARIOT, FERNANDO JOEL; ECHEVERRIGARAY, SERGIO; PICH, CLAUS TRÖGER; MOURA, SIDNEI; PADILHA, FRANCINE FERREIRA; BORSUK, SIBELE; SAVEGNAGO, LUCIELLI; COLLARES, TIAGO; SEIXAS, FABIANA KÖMMLING; DELLAGOSTIN, ODIR; ROESCH-ELY, MARIANA; HENRIQUES, JOÃO ANTONIO PÊGAS. Antitumor activity of Brazilian red propolis fractions against Hep-2 cancer cell line. BIOMEDICINE & PHARMACOTHERAPY, v. 91, p. 951-963, 2017.