

A UCS É PRA VOCÊ QUE CRIA O FUTURO.

XXIX Encontro de Jovens Pesquisadores e XI Mostra Acadêmica de Inovação e Tecnologia



De 5 a 7/10

Local:
UCS -
Cidade
Universitária,
Caxias do Sul



UCS
UNIVERSIDADE
DE CAXIAS DO SUL

COMPARAÇÃO DE CULTIVO CELULAR 2D VERSUS 3D DA LINHAGEM TUMORAL HEP-2.

SIGLA DO PROJETO: PRÓPOLIS

Sarah Fontana Salvador¹, Caroline Oliveira da Silva Frozza¹, Rafaele Frassini¹, João Antonio Pêgas Henriques¹, Mariana Roesch Ely¹

¹Laboratório de Genômica, Proteômica e Reparo de DNA, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul (UCS).

INTRODUÇÃO

A compreensão do estudo *in-vitro* do comportamento citológico utilizando a cultura 2D possui restrições quanto ao crescimento celular, isentando um ambiente com proporções semelhantes àquelas que ocorrem *in vivo*. A cultura 3D simula bem o microambiente tumoral e responde similarmente ao modelo *in vivo* à terapia antitumoral, tornando-se indispensável para a compreensão do comportamento citológico frente a determinadas substâncias. O modelo amplamente utilizado é o tumoral 3D em esferoide, o qual cria interações célula-célula e célula-matriz semelhantes ao tecido tumoral. Desta maneira, este projeto objetivou padronizar um modelo de cultivo 3D para posteriores testes de citotoxicidade.

EXPERIMENTAL

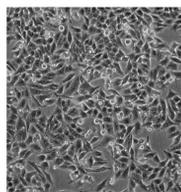
O cultivo celular 3D foi realizado utilizando-se a linhagem celular tumoral Hep-2 e o molde MicroTissues® 3D Petri Dish® micro-mold spheroids. Plaqueou-se um inóculo de 2×10^6 células por molde, totalizando, após 3 dias de crescimento, 81 esferóides. Os esferóides receberam o tratamento com etanol 2,5% (controle negativo), DMSO 10% (controle positivo) e meio de cultura (DMEM high glucose). A morfologia dos esferóides foi avaliada por microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.

1. Cultivo Celular

DMEM HIGH 10% SFB



Incubação a 37°C com 5% de CO₂ por 3-5 dias

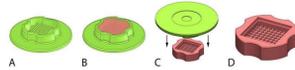


Hep-2 ATCC

Passagem das células para outras garrafas para obtenção de alta titulação de células



2. Produção de Esferóides



Formação do molde de agarose

Células coletadas das garrafas de cultivo, quantificadas, centrifugadas e ressuspensas em meio



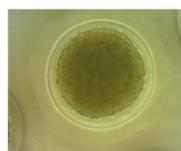
200 µL por molde na concentração de 2×10^6 células



Incubação a 37°C com 5% de CO₂ por 3-5 dias para formação dos esferóides

EXPERIMENTAL

3. Análise



Esferóide em um dos 81 micropoços do molde



Microscopia eletrônica de varredura



Citometria de fluxo

RESULTADO E DISCUSSÃO

No primeiro dia de plaqueamento as células se agruparam nos micropoços, e após 24 horas a junção celular se tornou mais evidente, o que provocou a formação de um halo vazio ao redor do esferoide e a presença de uma fina demarcação circundando a massa celular. A padronização do modelo 3D viabilizou a utilização deste modelo no nosso grupo de pesquisa, permitindo a realização de estudos comparativos entre monocamada e esferóides utilizando frações e compostos isolados do extrato etanólico da própolis vermelha.

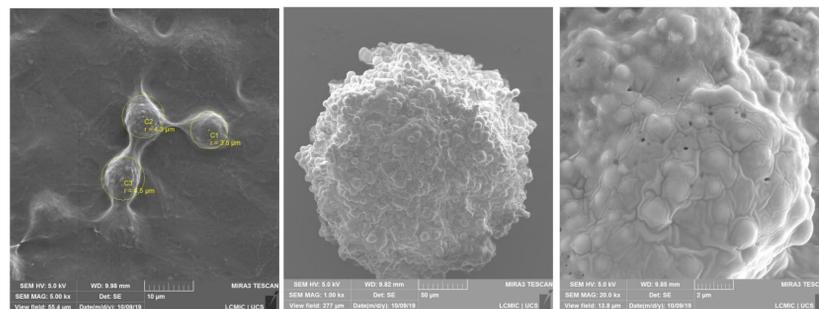


Figura 1: Microscopia eletrônica de varredura realizado no Laboratório Central de Microscopia (LCMIC), A: Células 2D sem tratamento; B: Esferóide (3D) tratado com Etanol 2,5% em aumento de 1Kx; C: Esferócito (3D) tratado com meio de cultura em aumento de 10Kx.

CONCLUSÃO

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.