

Título em Português:	DESENVOLVIMENTO DE ESFERÓIDES DERIVADOS DE LINHAGEM CELULAR DE HEPATOCARCINOMA HUMANO
Título em Inglês:	Developing a strategy to cultivate liver cells spheroids
Autor:	Nathália Liz Barrios
Instituição:	Universidade de São Paulo
Unidade:	Instituto de Física de São Carlos
Orientador:	Valtencir Zucolotto
Área de Pesquisa / SubÁrea:	Biofísica Celular
Agência Financiadora:	CNPq - PIBITI

Caracterização morfológica de esferóides derivados de linhagem celular de hepatocarcinoma humano

BARRIOS, Nathália Liz, LEITE, Celisnolia M., MIRANDA, Renata R., ZUCOLOTTTO,

Valtencir

Grupo de Nanomedicina e Nanotoxicologia, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 13566-590, São Carlos, SP, Brasil

O cultivo celular 3D é caracterizado por um crescimento celular tridimensional no qual as células regulam sua morfologia e fisiologia, tornando-se um sistema integrado e mais representativo do que ocorre *in vitro*, permitindo a possibilidade de mimetizar o microambiente tecidual encontrado *in vivo*. Buscamos neste estudo o estabelecimento de um protocolo para obtenção dos esferóides a partir da linhagem de hepatocarcinoma humano, HepG2, que possui pré-disposição para a formação natural dos esferóides. Para obtenção dos esferóides empregamos a metodologia de suspensão/flutuação forçada na qual utilizamos uma placa de 96 poços com formato em “U”, analisando a formação das estruturas nos dias 3, 5 e 7, em três diferentes concentrações de suspensões celulares. Em todas as condições avaliadas, os esferóides apresentaram diâmetro médio que variaram de 141-300 μm . A viabilidade das células presentes nos esferóides foi confirmada pelo ensaio da integridade de membrana por azul de tripano apresentando valores que variaram de 10 a 90 %. Todos os esferóides apresentaram formato arredondado, com boa compactação e região necrótica visível a partir do quinto dia de idade. Outros experimentos estão em andamento para mais análises quanto à morfologia, viabilidade e medidas dimensionais dos esferóides, além de análises microscópicas de campo claro, confocal e de varredura que serão realizadas para melhor estabelecimento e padronização de um modelo de cultura 3D para estudo *in vitro* da eficácia de nanocarreadores de fármacos para ser aplicado na terapia do câncer.

Palavras-chave: esferóides, cultivo celular 3D, crescimento celular tridimensional.

Morphological characterization of spheroids derived from human hepatocarcinoma cell line

BARRIOS, Nathália Liz, LEITE, Celisnolia M., MIRANDA, Renata R., ZUCOLOTTTO,

Valtencir

Nanomedicine and Nanotoxicology Group, São Carlos Institute of Physics, University of São Paulo, 13566-590, São Carlos, SP, Brazil

3D cell culture is characterized by a three-dimensional cell growth in which cells regulate their morphology and physiology, becoming an integrated and more representative system of what occurs *in vitro*, allowing the possibility of mimicking the tissue microenvironment found *in vivo*. In this study, we sought to establish a protocol for obtaining spheroids from the human hepatocarcinoma strain, HepG2, which has a predisposition to the natural formation of spheroids. To obtain the spheroids we used the methodology of forced suspension/fluctuation in which we used a plate of 96 wells with a "U" shape, analyzing the formation of the structures on days 3, 5 and 7, in three different concentrations of cell suspensions. In all the conditions evaluated, the spheroids presented mean diameter ranging from 141-300 μm . The viability of the cells present in the spheroids was confirmed by the trypan blue membrane integrity assay presenting values ranging from 10 to 90 %. All spheroids presented rounded shape, with good compaction and necrotic region visible from the fifth day of age. Other experiments are underway for further analysis of the morphology, viability and dimensional measurements of the spheroids, as well as clear, confocal and scanning field microscopic analyses that will be performed to better establish and standardize a 3D culture model for *in vitro* study of the efficacy of drug nanocarriers to be applied in cancer therapy.

Keywords: spheroids, 3D cell culture, three-dimensional cell growth.