

Cultivo de Células nos Estudos de Interação Parasito-Hospedeiro

(0:01) Saudações, mais um podcast Ciência Ativa na Educação, e hoje vamos falar sobre o (0:06) cultivo de células nos estudos de interação parasito e hospedeiro, e para (0:11) falar sobre esse tema eu chamei a doutora Andréa Ávila e o doutor Marcel Ramírez (0:16) para falar um pouquinho sobre esse tema. Então, antes de tudo, eu queria saber, por (0:21) exemplo, quais são os conceitos-chaves desse estudo da interação entre (0:25) parasito e hospedeiro, vocês que trabalham com isso. (0:28) Bom, obrigado pela oportunidade de nos comunicar um pouco, explicar esses (0:33) conceitos básicos de interação parasito e hospedeiro.

Na verdade, a gente usa o (0:39) cultivo celular tentando fazer uma mímica um pouco, reproduzir o que acontece (0:46) entre um patógeno quando ingressa um organismo e produz uma doença. A gente (0:52) tem a oportunidade de realizar experimentos controlados iniciando esse (1:01) primeiro contato, depois estabelecendo a infecção e também poder ver a (1:07) persistência da infecção em uma cultura celular. Então, esses elementos são (1:12) interessantes para saber como são os mecanismos celulares e moleculares que (1:20) estão envolvidos e que permitem que esse patógeno persista no organismo e (1:24) produz uma doença.

(1:27) E o que eu acho interessante é a questão da gente lembrar também que muitos (1:33) parasitas são intracelulares. Então, muito dos ensaios, acho que o conceito seria de (1:38) você talvez levantar hipóteses e avaliar quais são os fatores importantes que (1:46) facilitam ou até mesmo da célula que ela utiliza como defesa para a infecção (1:51) desse patógeno em vitro. Então, como o Marcel colocou, é justamente a vantagem de (1:57) você ter um modelo em que você consegue primeiro analisar em vitro quais são os (2:02) fatores essenciais, por exemplo, toxoplasma gondii, que é um parasita (2:07) intracelular e o interessante é que ele invade a célula de uma forma ativa.

Então, (2:12) ele modifica toda a célula para ele conseguir sobreviver dentro da célula. (2:16) Então, se você tem um sistema em vitro, isso facilita você identificar que (2:21) modificações são essas, quais são, digamos, os fatores que fazem com que o (2:29) parasita consiga sobreviver e com isso depois você pode, então, de alguma forma (2:33) entender isso e inibir. Então, tem o lado que é essa necessidade de você (2:39) cultivar o parasita e tirar do ambiente, do animal, para você poder ver e (2:45) levantar hipóteses, ver os mecanismos básicos que depois, obviamente, você (2:48) consegue comprovar isso aí para um estudo em vivo.

Então, acho que é a (2:54) possibilidade de você criar modelos para que você possa identificar os fatores (2:58) que são essenciais para essa infecção, seja do lado do parasita como da própria (3:03) célula, de como que a célula se defenderia a isso. (3:09) Queria complementar um pouco o que a Andrea está falando, porque eu trabalho (3:12) justamente com dois modelos, um intracelular e outro extracelular. (3:17) Então, é muito interessante isso porque nos abre a cabeça, nos mecanismos, (3:22) comparamos.

Então, o intracelular *Trypanosoma cruzi* precisa invadir as células (3:28) para progredir na infecção. E *Giardia intestinalis* é um extracelular e ele (3:34) precisa aderir as células, que seria, nesse caso, a célula intestinal, para (3:40) produzir dano e produzir a diarreia. Então, a gente pode interpretar, pensar, (3:47) levantar hipóteses, como a Andrea está comentando.

E, dessa maneira, (3:52) também, algo muito interessante para vocês que devem ter ouvido, dos problemas (3:59) que está tendo experimentação animal, a gente reduz e só deixa os (4:06) experimentos animais para um momento que seja realmente muito necessário. (4:11) Então, trabalhar in vitro nos permite reproduzir, repetir experimentos, ver (4:17) diferentes variáveis e,

dessa maneira, de uma maneira sistemática, utilizando o (4:22) método científico, para poder comprovar nossas hipóteses. (4:26) E vocês me trouxeram algumas ideias da relevância disso, mas vocês poderiam, de (4:31) repente, pontuar mais claramente o quão relevante é a gente estudar a interação (4:36) do parasita e do hospedeiro, principalmente quando a gente pensa na (4:40) saúde humana e animal? (4:42) Olha, a resposta, normalmente, a uma infecção depende muito do tipo celular.

(4:49) Então, vou dar um exemplo. Em alguns casos, você pode utilizar, por exemplo, (4:54) ver o perfil de citocinas, de moléculas que estão envolvidas com a defesa, (5:03) para saber se, por exemplo, aquele tipo celular é mais suscetível ou não à (5:07) infecção. Então, uma abordagem que pode se utilizar seria isso, você estudar (5:11) diferentes tipos celulares.

Por exemplo, se você trabalha com uma célula que é do (5:16) músculo esquelético, dependendo, essa célula vai reagir de uma forma (5:22) diferente a uma célula, por exemplo, que é do neurônio, entende? Então, quer dizer, o (5:27) parasita, ele consegue infectar as duas, mas você ter modelos em que você possa (5:33) avaliar a resposta, por exemplo, de uma célula a essa infecção em tipos de (5:37) celulares diferentes, você pode ter uma ideia e inferir quais são, por exemplo, os (5:42) fatores que são mais importantes para combater uma infecção num tipo celular ou (5:48) não. Então, que danos isso pode gerar naquele tipo celular, que aí você pode ver (5:53) para o lado, por exemplo, em toxoplasma você tem muitos cistos, em que invade a (5:59) questão de células do cérebro. Então, ali ele vai, ele adormece, ele modifica.

(6:05) Então, o que que leva a essa modificação? Como que o parasita consegue sobreviver (6:11) ali dentro? Então, isso é uma outra vantagem também, que você usar com tipo (6:16) celular, isso te aumenta a possibilidade de você estudar semelhanças e (6:21) diferenças numa infecção, porque você pode utilizar diferentes tipos celulares (6:26) e avaliar a resposta como, por exemplo, você teria proteínas, vamos por um (6:31) endotélio para ser mais prático. O endotélio, por exemplo, quando ele é (6:36) ativado, e aí essa ativação também ajuda numa resposta imune, é como se fosse uma (6:42) barreira, ele expressa, por exemplo, na sua superfície uma proteína que é a ICAM-1. (6:48) Então, você olha, será que neste tipo de endotélio, você tem endotélios que são (6:52) provenientes, sei lá, de vasculatura cerebral, outra que é o próprio cordão (6:59) umbilical.

Então, como que essas células respondem? Será que, no caso, para uma (7:05) determinada cepa de parasita, aquele endotélio vai responder igual, ou será (7:10) que eu tenho diferenças? Esse dano, essa ativação é igual, essa expressão de (7:16) proteínas na superfície é igual para um, e o mesmo vale, muitas vezes, para (7:23) moléculas do sistema imunológico. Dependendo do tipo de citocina, você tem (7:26) um perfil que é mais inflamatório, outro perfil que já não é tanto, então isso (7:31) te ajuda a identificar, assim, quais proteínas estariam envolvidas, por exemplo, (7:37) num dano a uma infecção, ou como aquela célula responderia, no sentido de ser (7:42) mais suscetível ou não a uma determinada infecção. (7:46) Muito interessante o comentário de Andrea, porque me permite criar um link com (7:52) nossas perguntas biológicas.

Então, no caso de *Trypanosoma cruzi*, a gente está (7:59) tentando entender como se desenvolve a doença crônica, e a gente, as (8:06) características da doença, que é muito pouco frequente na fase aguda, e (8:13) depois passa a desenvolver uma fase crônica através do tempo, tem sido visto (8:18) que, em situações de problemas ao coração, (8:25) miocardites, em doença crônica, não tem sido visto a presença do parasita, e tem (8:33) sido visto que ele está frequentando mais células intestinais. (8:37) Quando nós vimos essas evidências levantadas por outros grupos, (8:41) a gente colocou como hipótese no nosso laboratório caracterizar diferentes (8:46) tipos

celulares. Então, simulamos o que poderia estar acontecendo em uma célula (8:52) muscular, mioblasto e uma célula intestinal.

Então, usamos uma célula CACO2, (8:57) que é a célula intestinal, e que representa o intestino, o trato gastrointestinal e (9:02) uma célula C1212, que representa o miocárdio. E aí, nós comparamos, porque (9:11) nós caracterizamos vesículas extracelulares, que são liberadas por (9:16) todos os organismos em resposta a uma interação entre um patógeno e uma célula (9:22) hospedada, e elas mesmas estão liberando, são uma forma de comunicação, então nós estamos (9:27) interessados se essas vesículas extracelulares são capazes de determinar (9:31) o tropismo do parasita na fase crônica. E aí, estamos caracterizando a resposta, (9:38) quanto uma cepa de um parasita está infectando na presença de vesículas (9:43) extracelulares o tecido intestinal e quanto está influenciando para infectar (9:49) uma célula miocárdica.

Dessa maneira, temos uma ideia geral de uma resposta em (9:55) determinado tecido, em determinado momento da doença, com determinadas (10:00) cepas. No caso do miocárdio intestinal, apenas é o intestino que está atacando e (10:06) nós trabalhamos tentando simular essa interação de miocardia com intestino, (10:12) usando as células CACO2 e, atualmente, estamos tentando produzir como é que o (10:18) parasita produz a quebra do epitélio, simulando um epitélio intestinal com (10:24) uma infecção em uma célula com múltiplas camadas, em uma espécie 3D. (10:32) Dessa maneira, nós estamos tentando simular todos os eventos moleculares que (10:36) aconteceriam e eventos celulares, quando o parasita estaria quebrando o epitélio e (10:42) produzindo a diarreia.

(10:43) Ficou muito bom as informações que vocês trazem, e o quão complexo é isso. (10:49) Às vezes, a gente simplifica, mas para cada linhagem existe um contexto e, às vezes, (10:54) a resposta do parasita ou da célula mesmo vai ser diferente em cada um desses cenários. (10:58) Inclusive com relação ao tratamento.

(11:01) É, até você trouxe um gancho que era a próxima pergunta que a gente ia fazer. (11:05) Como que esses estudos com o cultivo de células podem contribuir para o (11:09) desenvolvimento mesmo de novos tratamentos? (11:12) Vocês têm algum exemplo de sucesso nessas descobertas? (11:15) Eu vou falar assim bem rapidamente, porque realmente essa é uma parte da (11:19) aplicabilidade, que é algo muito interessante dentro da nossa via científica. (11:25) Mas nós trabalhamos muito com ciência básica.

(11:28) Nós queremos entender aspectos iniciais da interação. (11:32) Queremos responder como um ponto final essa aplicabilidade, mas certamente conhecemos (11:40) o quanto e como deve ser usado cultura celular para validar algum tipo de tratamento. (11:47) Eu vou dar um exemplo rápido, que é todo tipo de antiparasitários que nós podemos usar (11:55) são testados, no caso de parasitas intracelulares e tanto aqueles que se aderem a célula e (12:03) têm uma relação não intracelular, você tem que utilizar uma linhagem celular que (12:10) permite que o parasita se infecte e se mantenha dentro da sua forma intracelular, (12:16) como se manteria dentro de um organismo produzindo doenças.

(12:21) Então todos os fármacos devem ser tratados, passaram por um teste em infecção celular, (12:28) em cultivo celular, de tal maneira que a ideia é ter um fármaco que seja capaz de ter (12:36) uma atividade antiparasitária e que não lese tanto as células. (12:42) Então isso tem sido... (12:43) Manter as células vivas, humanas. (12:46) E isso é muito difícil, doutor.

(12:48) De fato, muitos dos medicamentos quimioterápicos têm sido usados, baseados na experiência apenas, (12:59) de ver se reduzem a infecção ou não e às vezes tem muita toxicidade. (13:05) As concentrações de dentes. (13:07) As concentrações.

(13:08) Então a cultura celular nos permite realmente ir atrás de alguns outros (13:16) alvos que seriam específicos do parasita para ver realmente, provar experimentalmente (13:24) que esse fármaco consiga reduzir a infecção e tem uma lesão ou um dano menor nas células, (13:33) antes de ir à experimentação animal. (13:36) É, sem dúvida, com relação a isso, uma das vantagens porquê é aquilo, né? (13:41) Compostos existem, assim, há centenas. (13:44) Então o primeiro passo que eu acho que o cultivo celular utiliza é justamente para fazer essa varredura (13:50) de identificar compostos que eles podem ser provenientes, desde... (13:55) Tem muito isso de compostos químicos que são sintetizados.

(13:59) Você tem a questão do reposicionamento de drogas também, (14:02) que já são fármacos utilizados, que até facilita, porque você já tem ideia. (14:07) Mas tem muitos produtos que ainda existem, principalmente que vêm de fontes de produtos naturais. (14:13) Então a primeira questão no momento que você tem essa disponibilidade (14:19) desses compostos é avaliar justamente isso.

(14:21) Então o cultivo celular, quer dizer, você pode usar diferentes tipos de células (14:25) e avaliar a citotoxicidade. (14:27) Então a primeira parte é isso, que provavelmente vocês abordam isso no curso também. (14:33) Aquele que não é tóxico pra célula, o segundo desafio é ver se, (14:37) da mesma forma, se isso vai ser tóxico também pro parasita.

(14:41) Por isso que é muito importante usar o cultivo e esses modelos em vidro (14:46) justamente pra você fazer essa análise. (14:48) Uma substância que não é tóxica pra célula, mas no momento que eu ponho no cultivo celular (14:52) o parasita, ele vai ser atingido também? (14:55) Sim, porque a vantagem que ele fala da pesquisa básica (14:59) é a forma que você pode usar o cultivo celular (15:02) pra estudar mecanismos básicos até do próprio parasita (15:06) pra identificar, por exemplo, alvos e proteínas que sejam específicas do parasita (15:11) que tem uma estrutura diferente das células de humanos (15:15) e aí você pode, depois de identificar essa proteína (15:19) tentar desenvolver e desenhar compostos que inibem essa proteína. (15:24) Esse alvo? (15:25) Esse alvo, mas isso não quer dizer que vai ter sucesso (15:27) porque você tem posto toda uma questão disso, daquele composto (15:31) dele entrar dentro da célula.

(15:32) Então, o análise em vidro é o primeiro passo, que nem ele falou. (15:36) Mas isso já te dá uma ideia do que é, porque você faz uma varredura (15:39) então você já vai limitando o número de compostos (15:42) que você vai utilizar em vivo. (15:44) Você imagina, se você tiver centenas de compostos, já usar a modelo animal.

(15:49) Uma última pergunta que eu tenho pra vocês (15:51) em relação às limitações e os desafios envolvendo o estudo (15:55) que vocês que trabalham com isso devem conseguir pontuar alguma coisa. (16:01) Limitação sempre é que um organismo em vivo (16:06) realmente reproduz um pouco mais as variáveis que existem (16:10) tanto dos patógenos quanto do organismo (16:13) sistema imune, sistema celular (16:15) é um ambiente diferente, fisiológico (16:18) Reproduz exatamente um sistema (16:20) Então, em vidro, em cultura, a gente tenta reproduzir (16:25) mas realmente não é o mesmo que fazer uma experimentação animal (16:31) mas por outro lado, e isso tanto como uma vantagem como um desafio (16:35) no momento atual tem crescido muito a ideia de tentar (16:41) reproduzir o melhor possível o que está acontecendo (16:45) e aí surgiram algumas iniciativas (16:48) que na última década, principalmente (16:52) cresceram em relação à cultura celular (16:54) Então, reproduzir 3D

(16:58) porque 3D tem uma dinâmica espacial diferente (17:02) que você pode entender melhor a interação parecida com a celular hospedeira (17:06) órgão-on-a-chip, tentando criar um órgão em um chip (17:10) reproduzindo esferóides (17:12) que são uma forma de ter essa parte tridimensional (17:16) matriz gel que seria compactando a célula (17:20) dentro de uma matriz extracelular (17:22) simulando esse contato 3D (17:27) Então, tanto quanto há limitações (17:29) nesse momento está existindo um pouco mais (17:32) de desafios e vantagens para tentar (17:35) chegar ao ponto de diminuir ao máximo (17:39) a necessidade de reproduzir o melhor possível (17:42) o que pode estar acontecendo para (17:44) concentrar na validação final em animais (17:48) evitando ter uma experimentação animal excessiva (17:51) até tentar chegar em vitro (17:55) a maiores evidências para poder ir (17:59) à experimentação animal (18:02) Sem dúvida, a questão da limitação é um pouco isso (18:05) no momento que você tira (18:07) da experimentação você não tem aquela resposta que a gente fala (18:11) sistêmica, que a gente tem que imaginar que uma (18:15) infecção, focando em parasita (18:17) ela é influenciada por diferentes fatores (18:20) que obviamente quando você está dentro de um organismo (18:24) multicelular, isso faz diferença (18:26) a primeira limitação é a gente sempre pensar que é isso (18:29) a primeira etapa, a questão de você (18:32) ter ideias e levantar hipóteses, então você nunca pode (18:35) inferir que isso acontece no organismo (18:38) a mesma coisa é quando a gente fala na busca de tratamento (18:41) por que é tão difícil? Primeiro que normalmente os parasitas (18:45) são células eucarióticas, como as células que eles infectam (18:48) então tem muitas proteínas semelhantes (18:51) então mesmo que você ache um alvo promissor (18:54) que seja tóxico para o parasita e não seja (18:57) tóxico para a célula, isso não significa que (18:59) quando você vai testar isso (19:01) num sistema, num animal, num organismo (19:06) completo, aquela droga vai ser (19:08) porque tem que ver se ela consegue (19:11) ser absorvida, como ela vai ser metabolizada (19:14) tudo isso você não tem no modelo vivo (19:16) mas, foi que nem o Marcel falou, é necessário (19:20) e é o primeiro, porque realmente poupa muito trabalho (19:23) porque você de alguma forma limita (19:26) em pesquisa básica você tem várias respostas (19:29) sem dúvida nenhuma (19:30) e eu acho que é muito promissor hoje (19:36) essa capacidade, porque os desafios existem (19:39) para a gente superar, então à medida que vai (19:42) melhorando a tecnologia, que a ciência vai evoluindo (19:45) quer dizer, tem outras áreas da ciência (19:48) que não só a biológica que ajudam também nisso (19:51) uma das ideias que eu acho que é promissor (19:53) é justamente essa capacidade agora de a gente não trabalhar mais (19:57) só com um cultivo (19:59) de um 2D, de um T3D (20:02) que você começa a simular tecidos (20:05) como o Marcel falou, os mini-cérebros (20:08) então quer dizer, vai se desafiando (20:11) aí a ciência vai criando novas abordagens (20:16) e eu acho que essa parte (20:18) de você começar a simular (20:20) órgãos, isso vai ajudar muito até (20:23) para você ter mais sucesso na tua pesquisa (20:26) responder a tua pergunta de uma forma mais (20:28) vantajosa, sem ter que você realmente ficar usando (20:32) sempre animais (20:33) E se me permitiu umas palavras finais (20:35) eu queria dizer que basicamente (20:38) a gente pretende entender (20:41) essa interação do patógeno com a célula (20:43) e muitos dos objetivos vão para tentar (20:47) bloquear a produção dessa doença (20:50) dessa infecção, então bloqueando (20:52) evitando, tanto controlando o parasita (20:55) tanto intracelular ou fora da célula (20:59) entender os danos que estão acontecendo (21:02) na célula, entender os mecanismos (21:05) para ver se podemos ter inibição (21:08) de alguns eventos celulares (21:10) que produzem a doença (21:14) então basicamente, em termos gerais (21:17) a gente pretende entender em vitro (21:20) utilizando cultura celular (21:22) todos os eventos moleculares e celulares (21:24) que estão produzindo a doença (21:26) tentar evitar, tentar controlar e tratar (21:29) Eu uso a palavra conheça o inimigo (21:34) quanto mais você conhecer o inimigo (21:37) melhor você vai entender as fraquezas (21:40) estratégia de guerra (21:42) sem dúvida nenhuma, todos os

modelos de vida é isso (21:46) quanto mais você conhecer o inimigo (21:49) mais chance você tem de conhecer as fraquezas (21:51) então no caso inimigo eu falo os parasitas (21:55) conhecer as fraquezas para que você consiga (21:57) se fortalecer de alguma forma, combater isso da maneira mais adequada (22:01) Olha, Andréa e Marcel, eu adorei essa conversa (22:04) mas a gente termina por aqui (22:06) a gente agradece aos ouvintes também (22:08) e nos encontramos novamente no próximo podcast (22:10) Ciência Ativa na Educação.

Audiotranscrição por TurboScribe