

1524

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MMP-9 EM CÉLULAS HUH7 CULTIVADAS EM MONOCAMADA (2D) E CULTIVADAS EM MATRIZ EXTRACELULAR DE FÍGADO DECELULARIZADA (3D). UM MODELO DE TUMOR HEPÁTICO 3D IN VITRO

Nélson Alexandre Kretzmann Filho, Laura Simon, Gustavo Ochoz de Munoz, Carolina Uribe, Ursula Matte. Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução: As metaloproteinases de matriz (MMP) são proteases envolvidas na degradação da matriz extracelular em condições fisiológicas, mas também atuam em processos patológicos como na metástase de tumores malignos. A MMP-9 pode degradar colágenos tipo IV e V e outras proteínas da matriz extracelular. Sua expressão em células cultivadas em 3D não está documentada. **Objetivo:** Avaliar a expressão de MMP-9 por imunohistoquímica e qPCR nas células da linhagem de hepatocarcinoma humano HuH7 cultivadas em monocamada (2D) e no modelo em 3D. **Materiais e métodos:** Foram utilizados camundongos CB57 de 30 gramas. Para a decelularização foi utilizada a técnica descrita por Shupe e colaboradores com modificações. O fígado foi perfundido com detergentes biológicos para solubilizar as membranas celulares. Soluções isotônicas (PBS) de 1, 2 e 3% (peso/volume) de Triton X-100 e SDS0,1% através do órgão por meio de uma bomba peristáltica com vazão de 5 mL/minuto. As soluções contendo detergente foram retiradas do fígado a partir da perfusão com 300 ml de PBS. Finalmente, 10 mL de soro fetal bovino (SFB) foram instilados para dentro da matriz. Todas as soluções de perfusão (incluindo SFB) continham 1% de antibiótico/micótico (Invitrogen, Carlsbad, CA). Para a recelularização da MEC hepática com as células Huh7 o lóbulo direito do fígado foi mantido em um sistema de circulação semi-fechada fazendo com que o órgão seja recelularizado in vitro em condições assépticas (3D). As células Huh7 foram cultivadas em monocamadas (2D) sob condições padrões com meio DMEN. Foram realizadas as expressões imunohistoquímicas e qPCR de MMP-9 3 experimentos. **Resultados:** Foi observado aumento da expressão de MMP-9 nas células Huh7 tanto por imunohistoquímica quanto por qPCR no cultivo em 3D comparado com o cultivo em 2D. **Conclusão:** A expressão da MMP-9 no cultivo 3D confirma o modelo como ferramenta para o estudo de tumores hepáticos in vitro em 3D mimetizando um tumor in vivo. **Palavra-chave:** Decelularização, Cultivo 3D, Tumor in vitro. Projeto 11-360