

XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o
Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a
Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a
Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a
Mostra de Pós-Graduação da UFF

Toxicologia de produtos naturais em linhagens LLC-MK2 *in vitro*

Luisa Lemos Alvarenga, Edésio José Tenório de Melo

O desenvolvimento de um composto químico de alta eficácia e especificidade contra agentes biológicos intracelulares, como *Trypanosoma cruzi* e *Toxoplasma gondii*, é de extrema dificuldade. As drogas que eventualmente são utilizadas contra estes agentes, como Pirimetamina, Sulfadiazina ou Clindamicina para *T. gondii* e Benzonidazol® para *T. cruzi*, podem promover diversos efeitos colaterais e possuir grande toxicidade. O objetivo do presente resumo é demonstrar a toxicologia da ação de compostos químicos naturais provenientes das plantas *Trichilia casaretti*, *Trichilia lepidota* e *Trichilia hirta* em linhagens celulares LLC-MK2 (epitélio de rim de macaco Rhesus – *Macaca mulatta*) e, em seguida, determinar uma escala de toxicidade dos compostos naturais em culturas destas células infectadas com os agentes biológicos *T. cruzi* e *T. gondii*. As culturas de LLC-MK2 foram mantidas em garrafas plásticas de cultura (25cm²), contendo meio DMEM 1152 (Dulbecco's modified Eagle medium), amplamente utilizado para cultura *in vitro* de células de mamífero, suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB). Com base na contagem celular por 7 dias, em 5 campos, foi observado que nas primeiras 24h, a quantidade de células era de, aproximadamente, $8,9 \times 10^5$. No sétimo dia, a cultura se encontrava na fase estacionária, quando foi realizada a contagem de aproximadamente $1,7 \times 10^6$ células por garrafa. Assim, foi necessário realizar o repique das células para evitar que estas atinjam a fase de declínio, na qual a taxa de morte celular supera a taxa de divisão celular. O conhecimento da taxa de crescimento celular é necessário para que haja controle da quantidade de células que serão utilizadas nos procedimentos futuros. Após o domínio das técnicas de cultura celular, ocorrerá a infecção das culturas de LLC-MK2 com os parasitos *T. cruzi* e *T. gondii*, e estas serão observadas e quantificadas no microscópio óptico ZEISS com lente de aumento de 20x, através da montagem de lâminas histológicas. A quantificação será realizada em 4 campos diferentes, contando (1) o número de células infectadas; (2) células não infectadas e (3) número de parasitos intracelulares. Após realização dos experimentos utilizando os extratos naturais, espera-se determinar as condições para que os produtos naturais utilizados sejam tóxicos apenas aos agentes intracelulares *T. cruzi* e *T. gondii*, sem prejudicar a célula hospedeira, além de observar os processos celulares envolvidos na eliminação dos mesmos.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF

Eixo temático: Biociências

Fomento da bolsa: FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a

Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a

Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a

Mostra de Pós-Graduação da UFF

Toxicology of natural products in LLC-MK2 cell lines *in vitro*

Luisa Lemos Alvarenga, Edésio José Tenório de Melo

The development of a highly effective and specific chemical compound against intracellular biological agents such as *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* is extremely challenging. Drugs that are eventually used against these agents, such as Pyrimethamine, Sulfadiazine or Clindamycin for *T. gondii* and Benznidazole® for *T. cruzi*, may promote various side effects and have high toxicity. The objective of this summary is to demonstrate the toxicology of the action of natural chemical compounds derived from the plants *Trichilia casaretti*, *Trichilia lepidota* and *Trichilia hirta* on LLC-MK2 cell lines (Rhesus monkey kidney epithelium - *Macaca mulatta*) and then determine a toxicity scale of natural compounds in cultures of these cells infected with the biological agents *T. cruzi* and *T. gondii*. The LLC-MK2 cultures were maintained in culture plastic bottles (25cm²) containing DMEM 1152 medium (Dulbecco's modified Eagle medium), widely used for *in vitro* culture of mammalian cells, supplemented with 5% fetal bovine serum (FBS). Based on cell counting for 7 days in 5 fields, it was observed that in the first 24h, the number of cells was approximately $8,9 \times 10^5$. On the seventh day, the culture was in the stationary phase, when approximately $1,7 \times 10^6$ cells per bottle were counted. Thus, cell transfer was necessary to prevent them from reaching the decline phase, in which the rate of cell death exceeds the rate of cell division. Knowledge of cell growth rate is necessary to control the amount of cells to be used in future procedures. After mastering the cell culture techniques, LLC-MK2 cultures will be infected with *T. cruzi* and *T. gondii* parasites and observed and quantified under the ZEISS optical microscope with a 20x magnification lens, through the mounting of histological slides. Quantification will be performed in 4 different fields, counting (1) the number of infected cells; (2) uninfected cells and (3) number of intracellular parasites. After conducting experiments using natural extracts, it is hoped to determine the conditions under which the natural products used are toxic only to intracellular agents *T. cruzi* and *T. gondii* without harming the host cell, in addition to observing the cellular processes involved in their elimination.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

