



## REPRESENTATIVIDADE DE CULTURA 3D COMO MÉTODO ALTERNATIVO EM ALINHAMENTO AOS 3Rs: UM ESTUDO TRANSVERSAL

Evelyn Garcia Camargos<sup>1</sup>

Camila Botelho Miguel<sup>2</sup>

Denize Silva Brazil<sup>2</sup>

Wellington Francisco Rodrigues<sup>2</sup>

**Resumo:** O modelo de cultivo tridimensional (3D) é um método alternativo que conquistou a atenção da comunidade científica por sua capacidade de mimetizar algumas vias para sistemas orgânicos complexos. Tal interesse é exposto pela representatividade metodológica da técnica em abordagens científicas. Entretanto a exata relação para a representação da técnica em estudos científicos ainda não é clara. Assim o objetivo dessa abordagem foi relatar e verificar a expressão para a utilização de culturas 3D na ciência e sua contribuição para o alinhamento aos 3Rs. Para alcançar os objetivos foi realizado uma busca em base de dados do “National Center for Biotechnology Information” no período entre 2004 e outubro de 2023. Para viabilizar consistência a busca foi sistematizada e estratégias para busca avançada com a utilização de descritores e sinônimos devidamente registrados no “Mesh” foram utilizados. Os dados foram avaliados por meio de análise descritiva. Foi possível encontrar um aumento na quantidade de estudos que consideram o uso de cultura 3D no período avaliado ( $p < ,005$ ). Em diferentes levantamentos científicos é evidenciado a importância para a cultura 3D, sendo fortalecido sobretudo a fidedignidade com sistemas “in vivo”, sendo de extrema importância para a realização de testes farmacológicos que visam o tratamento de diversas doenças. Portanto, a abordagem estabelece uma clara relação para o aprimoramento de técnicas que utilizam a cultura 3D como forma alternativa para estudos em animais, contribuindo sobretudo para o alinhamento com os objetivos propostos nos 3Rs.

**Palavras-chave:** Método alternativo. Cultura 3D. Alternativas ao uso de animais

<sup>1</sup> Acadêmica do curso em bacharelado de Medicina do Centro Universitário de Mineiros, Unifimes. E-mail: [evelyncbb@academico.unifimes.edu.br](mailto:evelyncbb@academico.unifimes.edu.br)

<sup>2</sup> Docente do Centro Universitário de Mineiros, Unifimes.



## INTRODUÇÃO

Os métodos alternativos são metodologias que podem substituir e/ou mimetizar técnicas que envolvem a experimentação animal, surgindo para viabilizar o princípio dos 3 Rs: redução, refinamento e substituição (Replacement, Reduction and Refinement), introduzida na década de 1950. Estudos sobre culturas de células animais foram introduzidas no início do século XX e, a partir do lançamento pelo Instituto Nacional do Câncer nos Estados Unidos (NIC – National Cancer Institute) de um programa de pesquisa iniciado em 2003, foi impulsionado o desenvolvimento de sistemas *in vitro* que reproduzem a fisiologia de órgãos e tecidos humanos, assim como sua histologia, sendo este o modelo de cultivo tridimensional. Portanto, o modelo de cultura 3D é considerado uma metodologia emergente alternativa ao uso da experimentação animal, permitindo principalmente a substituição dos testes em animais, entretanto a exata relação para a representação da técnica em estudos científicos ainda não é clara. Certamente a compreensão para tal abordagem poderá contribuir para o fortalecimento às políticas e estratégias que corroboram com os propósitos dos 3Rs. Assim o objetivo dessa abordagem foi relatar e verificar a expressão para a utilização de culturas 3D na ciência e sua contribuição para o alinhamento aos 3Rs.

## METODOLOGIA

Aqui apresentamos um estudo observacional transversal retrospectivo em base de dados secundário. O levantamento dos dados foi realizado através de base de dados inserida no “National Center for Biotechnology Information”. A busca dos dados foi sistematizada, onde foram utilizados os descritores “3D culture” e seus sinônimos em combinação com “Drug evaluation, preclinical” e seus sinônimos. Para a determinação dos descritores e sinônimos a base “Mesh” foi consultada. O levantamento abrangeu o período de 2004 a outubro de 2023, compreendendo um total de 133 inquéritos científicos. Foram incluídos estudos de revisão, revisão sistemática, meta-análise, livros e documentos, encontrando um total de 132 estudos de revisão e apenas 1 artigo de revisão sistemática. Foi acessada também a página do NC3Rs (<https://www.nc3rs.org.uk/>) para a consulta da política de redução, substituição e refinamento do uso de animais na experimentação, além da página do Instituto



Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (<https://incqs.fiocruz.br/>) para obtenção de dados acerca da criação e intencionalidade da Rede Nacional de Métodos Alternativos (Renama) e para consulta de informações e detalhes acerca do modelo de cultura 3D.

Os dados foram tabulados e analisados em planilha de Excel da Microsoft® por meio de avaliação descritiva das frequências encontradas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A lei 11.794 de 2008, conhecida como Lei Arouca, define que uma experimentação animal não pode ser realizada, mesmo que para fins didáticos ou científicos, quando existirem recursos alternativos. Em 2011, foi criado o BraCVAM, ou Centro Brasileiro de Validação de Métodos Alternativos, sendo o primeiro centro sul-americano a validar e coordenar os estudos de validação de métodos alternativos à experimentação animal. Em 2012, surgiu a Rede Nacional de Métodos Alternativos (Renama), por meio da portaria 491 instituída pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). Essa rede surgiu com o intuito de acompanhar o panorama internacional que procura viabilizar o princípio da redução, refinamento e substituição da experimentação animal dentro de pesquisas científicas. A instituição da Lei Arouca, com posterior criação do BraCVAM e o surgimento do Renama demonstram o crescente interesse da comunidade científica na adoção e aplicação de metodologias alternativas à experimentação em animais.

A partir desse interesse, foram introduzidas no início do século XX, as culturas de células de animais, o que permitiu diversos avanços na área de biologia celular. Na cultura celular tradicional, normalmente denominada de cultura bidimensional (2D), é utilizada uma superfície de poliestireno modificado, um substrato não encontrado *in vivo*, utilizado para favorecer a adesão celular e induzir uma polarização artificial das células. Portanto, interações celulares complexas, assim como gradientes físicos e químicos observados em tecidos *in vivo* não são reproduzidas nas culturas em monocamada sobre plástico. Desse modo, muitas vezes os resultados observados em modelos *in vitro* frequentemente não são produzidos *in vivo*. Já as técnicas denominadas de cultura 3D, culturas organoides ou organotípicas, propõem uma abordagem onde há uma organização mais fisiológica, complexa e tridimensional, incluindo sistemas onde as células vão ser cultivadas em moldes tridimensionais de composição



variável, modelos estes onde células ou fragmentos de órgãos são mecanicamente sustentados ou modelos do tipo esferoide multicelular. Recentemente foram introduzidos também sistemas microfabricados de cultura microfluídica e os “órgãos sobre chip” (ou organ-on-a-chip). Estes modelos permitem interações célula-célula e entre elas e a matriz extracelular, depositada pelas próprias células ou derivadas de matriz natural ou sintética, levando a uma organização morfológica das células e regulando suas propriedades biológicas.

Em outubro de 2003, o Instituto Nacional do Câncer nos Estados Unidos (NIC – National Cancer Institute) lançou um programa de pesquisa para modelos de cultura 3D, impulsionando o desenvolvimento desses sistemas in vitro que visam mimetizar a fisiologia e histologia de órgãos e tecidos humanos. Esse impulso foi refletido por uma elevação do número de abordagens científicas atreladas à modelos de cultura 3D, bem como a notória relevância de sua utilização para o desenvolvimento de fármacos ou mesmo na busca por respostas biológicas que até então eram majoritariamente dependentes de modelos animais. Os dados obtidos demonstraram um total de 133 inquéritos científicos para o período de 2004 a outubro de 2023, relacionando a cultura 3D e sua utilização na avaliação pré-clínica de fármacos. Uma análise ao longo do tempo indicou um aumento no número de abordagens, principalmente a partir de 2011 ( $p < ,005$ ), onde foram observados 3 inquéritos no ano, seguido por um aumento subsequente até chegar a 23 abordagens científicas até outubro no ano de 2023, como mostrado na figura 1.

**Figura 1:** Quantidade de Artigos Publicados por Ano





Além da análise ao longo do tempo, foi realizada também uma descrição acerca do tipo de abordagem, englobando estudos de revisão, meta-análise, revisão sistemática e livros e documentos. Foram obtidos 132 estudos de revisão (99,25%) e um de revisão sistemática (0,75%), como demonstrado na figura 2. Em todos os estudos encontrados foram relatados diferentes estudos primários com a utilização de culturas 3D (100%).

Tabela 2: Tipo de Estudo Publicado



Dentre os inquéritos evidenciados, os conteúdos abordados abrangem principalmente três categorias: oncologia, cultura de células-tronco e avaliação de toxicidade de fármacos. Na oncologia, a cultura 3D se torna importante por sua capacidade de criar modelos tumorais que mimetizam o ambiente tumoral natural, sendo importante para a testagem de fármacos anticâncer, enquanto a cultura de células tronco visa o desenvolvimento de terapêuticas cujo objetivo é regenerar tecidos doentes ou disfuncionais. Logo, é perceptível a importância de estudos sobre a cultura 3D como método alternativo à testagem de animais, tendo em vista que seus resultados, majoritariamente, se aproximam de forma quase fidedigna ao resultado de um teste realizado in vivo, ao mesmo tempo em que se evolui a compreensão acerca dos efeitos de fármacos e permite a aplicação do princípio dos 3Rs na pesquisa científica.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos que envolvem culturas 3D estão em ascensão na ciência que permeia a área das ciências da saúde. Esse indicador emerge a explícita importância do método em sumarias áreas de pesquisas pré-clínicas, como para o desenvolvimento de fármacos oncológicos ou em medicina regenerativa com o uso de células-tronco. Portanto, a abordagem estabelece uma clara relação para o aprimoramento de técnicas que utilizam a cultura 3D como forma alternativa para estudos em animais, contribuindo sobretudo para o alinhamento com os objetivos propostos nos 3Rs.

## REFERÊNCIAS

CAVALHEIRO, Marianna *et al.* Modelos Tridimensionais de Cultura de Células: Aproximando o In Vitro do In Vivo. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 6, n. 2, p.72-83, 30 maio 2018. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.01053>.

PARK, Yujin. HUH, Kang. KANG, Sun-Woong. Applications of Biomaterials in 3D Cell Culture and Contributions of 3D Cell Culture to Drug Development and Basic Biomedical Research, **International Journal of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 5, 2 mar. 2021. MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22052491>

TOLEDO, Penélope. Métodos Alternativos ao Uso de Animais de Laboratório, 2019. Disponível em: [https://incqs.fiocruz.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2015:metodos-alternativos-ao-uso-de-animais-de-laboratorio&catid=114&Itemid=132](https://incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2015:metodos-alternativos-ao-uso-de-animais-de-laboratorio&catid=114&Itemid=132). Acesso em 29 de Set. de 2023.