

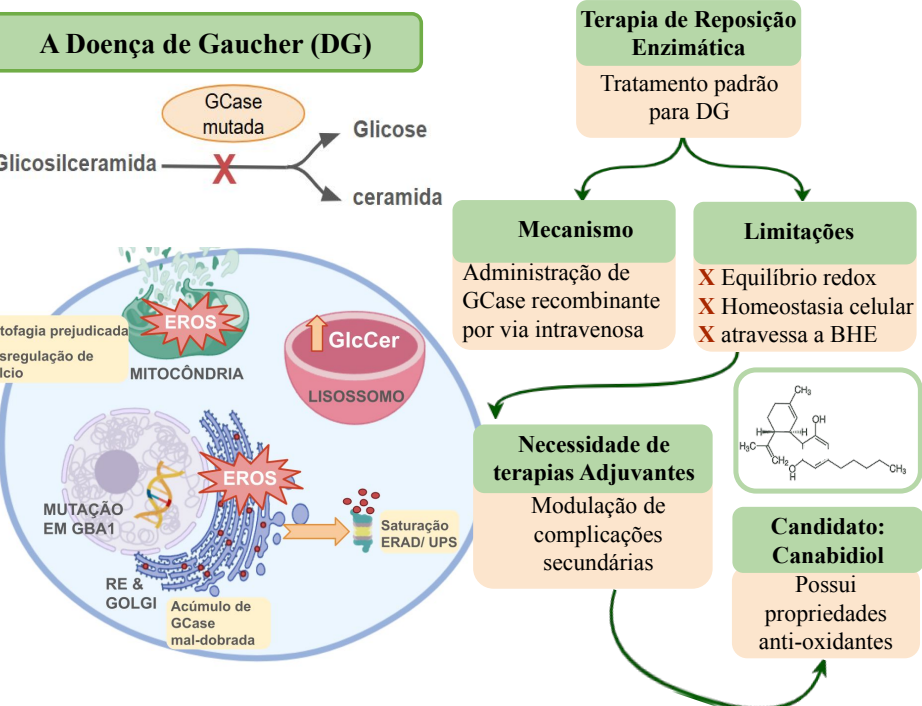


Efeitos *in vitro* do Canabidiol em uma linhagem com produção estável de GCase como modelo para terapia adjuvante na Doença de Gaucher



Gabriela Aparecida Marcondes Suardi¹, Claudia Emilia Vieira Wiesel¹, Eunice Brandão de Almeida¹, Lilian Louise Souza de Almeida¹, Bruno Lemes Marques², Kuruvilla Joseph Abraham¹, Alline Cristina Campos², Aparecida Maria Fontes¹
e-mail: gabisuardi@usp.br

INTRODUÇÃO



Adaptado de Roh et al, 2022. Mol Med (Berl).100(4):499-518

OBJETIVOS

Avaliar o impacto do canabidiol (CBD) na proliferação celular, viabilidade e atividade da β -glucocerebrosidase (GCase), intracelular e secretada, nas linhagens 293FT virgem vs transgênica L17_293FT_GBA-Opt clone 16.

MÉTODOS

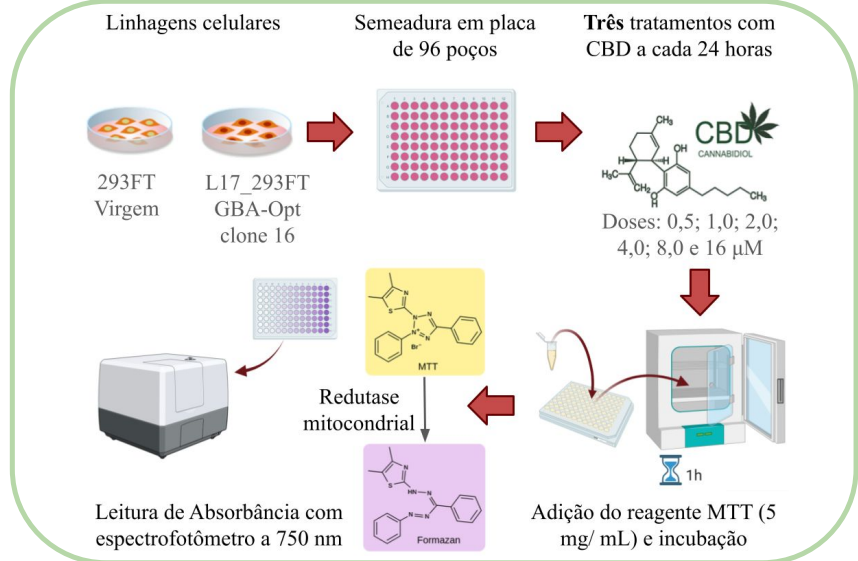


Figura 2. Viabilidade celular (ensaio MTT) das linhagens virgem (controle) e transgênica após três tratamentos consecutivos com CBD nas doses 0,5 a 16 μ M em meio DMEM suplementado com 2% de soro fetal bovino (SFB).

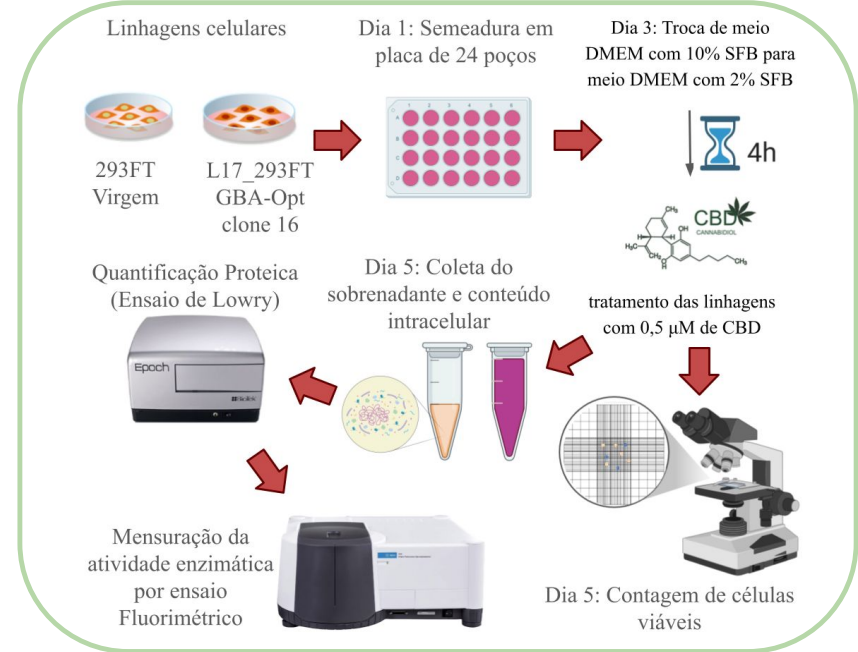


Figura 3. Fluxo experimental para quantificação proteica e atividade enzimática da GCase. Desenho experimental para a quantificação proteica total dos lisados celulares (ensaio de Lowry) e a mensuração da atividade enzimática da GCase por espectrofluorimetria em extratos celulares e sobrenadantes das linhagens tratadas com 0,5 μ M de CBD.

RESULTADOS

Sensibilidade Diferencial de Linhagens Celulares Humanas Transgênica e Controle ao Canabidiol

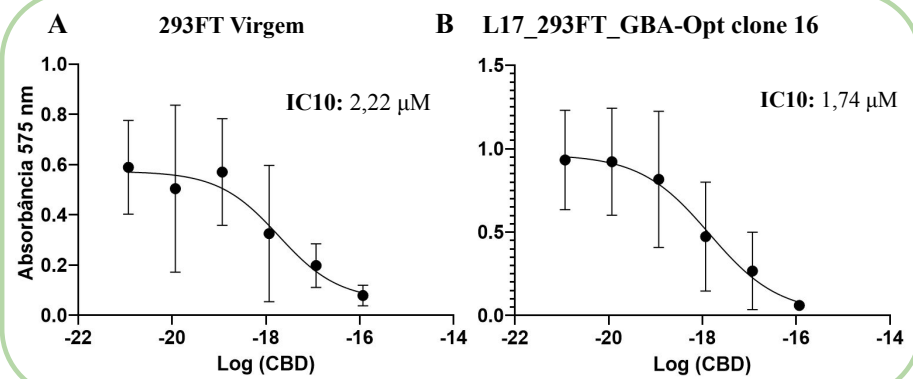
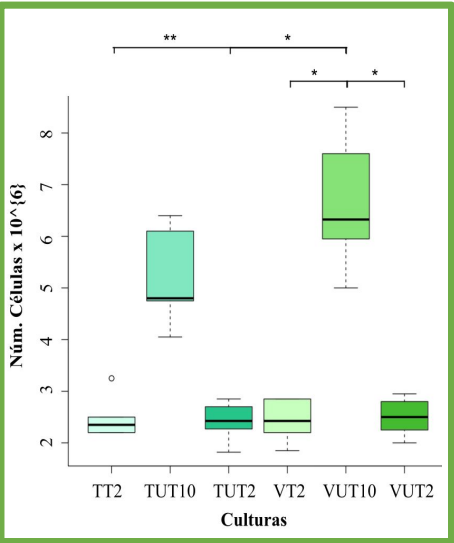


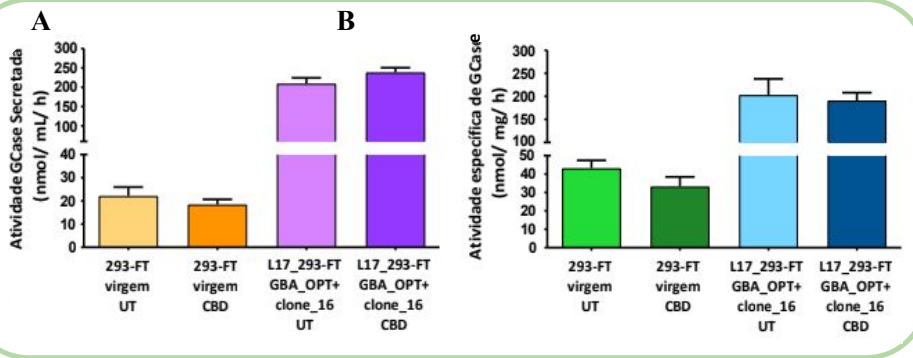
Figura 4. Curva dose-resposta ao CBD para as linhagens celulares transgênica e virgem, com o cálculo IC10. Os dados correspondem à absorbância a 575 nm (eixo y) em função do logaritmo da concentração de CBD (eixo x), apresentados como média $\pm$ desvio padrão de múltiplos poços ($n \geq 9$). A análise estatística foi realizada no software GraphPad Prism. (a) 293FT virgem (IC10: 2,22 μ M). (b) L17_293FT_GBA-Opt clone 16 (IC10: 1,74 μ M).



Efeito do CBD sobre a capacidade proliferativa em condição de 2% de SFB

Figura 5. Capacidade proliferativa das linhagens 293FT virgem (V) e transgênica (T) cultivadas em meio com 2% ou 10% de soro fetal bovino (SFB) e tratadas (T) ou não (UT) com 0,5 μ M de CBD. A condição de 10% SFB foi usada apenas como referência; as análises principais concentram-se em 2% SFB. Barras superiores indicam diferenças estatísticas (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

Atividade da GCase intracelular e secretada não é afetada pelo tratamento com CBD



	Média da Atividade Biológica	Média da Atividade Específica
293-FT Virgem UT	19,02 $\pm$ 2,16	43,17 $\pm$ 8,40
293-FT Virgem T	18,47 $\pm$ 4,64	33,28 $\pm$ 5,10
L17 clone 16 UT	209,7 $\pm$ 29,35	203,30 $\pm$ 69,59
L17 clone 16 T	239,10 $\pm$ 22,93	191,40 $\pm$ 33,44

Figura 6a. Atividade de GCase no sobrenadante de culturas de 293FT virgem e L17_293FT_GBA-Opt clone 16, tratadas (T) ou não tratadas (UT) com 0,5 μ M de CBD.

Figura 6b: Atividade Intracelular de GCase nas mesmas condições. Valores expressos como média + DP ($n > 3$).

CONCLUSÃO

Este estudo inicial sugere que o CBD, em concentrações não citotóxicas, não compromete a atividade GCase recombinante em células humanas, apoiando sua investigação como adjuvante potencial na DG. Estudos futuros deverão avaliar seus efeitos antioxidantes e moduladores em modelos celulares de macrófagos induzidos com DG para mimetizar a fisiopatologia da doença.