

Produção de esferóides mistos de células epiteliais prostáticas humanas e de adenocarcinoma prostático para testes de antitumorais.

Leonardo Wilans Pereira de Souza Rocha e Maria Helena Bellini Marumo

IPEN/CNEN-SP

INTRODUÇÃO

A neoplasia maligna prostática, é um dos tipos de câncer mais frequente no Brasil, com número de casos previstos para 2020 de 65840 para próstata, sendo que, em homens o câncer de próstata é o mais comum, apresentando incidência de 29,2%. O presente estudo utilizou duas linhagens de próstata diferentes, sendo estas a linhagem LNCap (Lymph Node Cancer Prostate), clone FGC (ATCC CRL-1740) como linhagem tumoral, que é uma linhagem de adenocarcinoma invasivo isolada do linfonodo, a segunda linhagem foi RWPE-1 (ATCC CRL-11609), de origem epitelial e que possui a capacidade de formar estruturas acinares em cultivos em 3D. Essas diferentes linhagens celulares foram avaliadas usando o modelo tridimensional celular (esferoide) por levitação magnética, visto que, esse modelo proporciona maior interação célula-célula, simulando a distribuição espacial natural das células no tecido [1], apresentando características mais próximas ao teste *in vivo*.

OBJETIVO

Produzir modelo de cultivo celular tridimensional de adenocarcinoma de próstata, contendo células tumorais e não-tumorais, utilizando sistema de agregação/levitação magnética.

MATERIAL E MÉTODOS

As linhagens de células LnCap (ATCC CRL-1740), linhagem de células de adenocarcinoma prostático humano, e células prostáticas humanas não-tumorais RWPE-1 (ATCC CRL-11609), foram cultivados em meio RPMI 1640. Para a produção dos esferóides foram utilizadas placas de 96 poços previamente tratadas com Pluronic® F-127 (0,5g/mL em 2-propanol). Para formação dos esferóides, as células foram tratadas com adição de nanopartículas de ferro produzidas como descrito [2] por 24 horas. Após esse período suspensões celulares foram depositadas nas placas tratadas com Pluronic® F-127 (10^5 células/poço), em proporções diferentes de cada linhagem (0 a 100% de cada uma das linhas estudadas), deixando os agregados celulares por 3 dias com ação do imã. Para avaliar a viabilidade dos esferóides foram utilizados dois corantes, o corante SYTOX™ Green (utilizado para avaliação das células mortas) e Hoechst 33342 (se integra ao DNA nuclear de todas as células). As imagens foram adquiridas com o microscópio INCell Analyzer 2500 HS (Cytiva)

RESULTADOS

Os esferóides foram fotografados durante diferentes dias, corados com SYTOX™ Green (corando em verde as células mortas) e Hoechst 33342 (corando em azul todas as células).

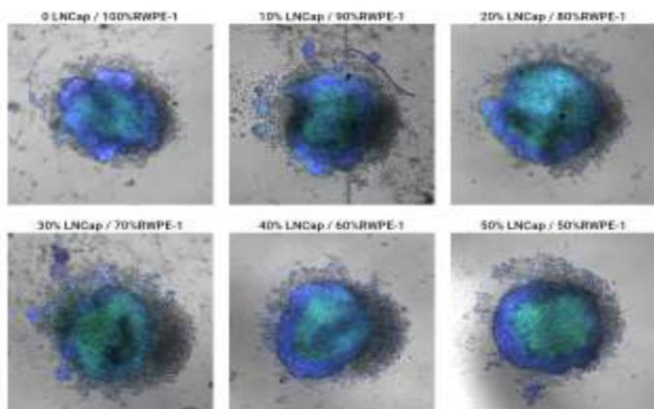


Figura 1. Seis esferoides com quatorze dias de experimento, com diferentes concentrações celulares, corados por 24h em SYTOX™ Green e 90 min. em Hoechst 33342.

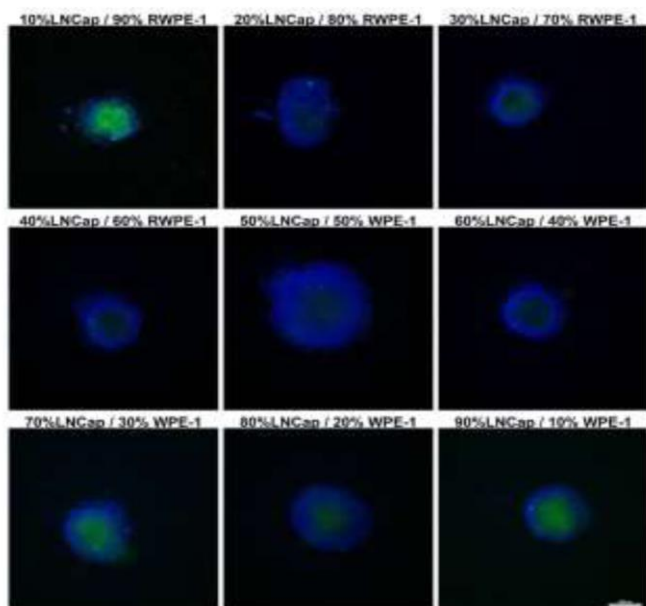


Figura 2. Imagem retirada utilizando o microscópio INCell Analyzer 2500 HS, contendo esferoides com 14 dias de formação corados com Hoechst 33342 por uma hora e meia e SYTOX™ Green por vinte e quatro horas.

A técnica de adição de Pluronic® F-127 em placas de cultura para impedir a adesão celular foi eficaz. A formação de esferoides decorrentes a co-cultura entre as células LNCap e RWPE-1 foi executada com sucesso, permitindo avaliar sua viabilidade até o 14 dia do experimento, sem troca de meio de cultura, permitindo avaliar a duração do esferoide em diferentes concentrações celulares, concluindo que a concentração de 60% RWPE-1 40% LNCap apresentou maior resistência e menor número de células mortas.

CONCLUSÕES

Foi possível determinar que esferoides de co-cultura de células RWPE-1 e LNCap são viáveis até, pelo menos, 14 dias em cultura com meio convencional sem suplementação hormonal ou nutricional. Esferoides formados com proporções de células RWPE-1 entre 20 a 60% mostraram-se mais eficientes em manter a proporção de células mortas em níveis mínimos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] FOGLIETTA, F.; CANAPARO, R.; MUCCIOLI, G.; TERRENO, E.; SERPE, L. Methodological aspects and pharmacological applications of three-dimensional cancer cell cultures and organoids. *Life Sciences*, v. 254, n. May, p. 117784, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117784>

[2] BONFIM, L.; PASSOS, P. Q. S.; GONÇALVES, K. O.; COURROL, L. C.; SILVA, F. R. O.; VIEIRA, D. P. Microwave-mediated synthesis of iron-oxide nanoparticles for use in magnetic levitation cell cultures. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, v. 9, n. 8, p. 1707–1717, 2019.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

PROBIC/CNPq (129728/2021-7) e IPEN/CNEN