

## AValiação Celular de Cultivo Primário de Câncer de Boca Submetidos a Hipóxia e Radiação Ionizante

Rosa LG<sup>\*1</sup>, Diesel LFC<sup>2</sup>, Camassola M<sup>3</sup>, Grivicich I<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso de Farmácia, Iniciação Científica PROBIC/FAPERGS no Laboratório de Biologia do Câncer, PPGBioSaúde, ULBRA. lu\_rosa09@hotmail.com.

<sup>2</sup> Doutoranda do PPGBioSaúde e no Laboratório de Células-Tronco e Engenharia de Tecidos e no Laboratório de Biologia do Câncer, ULBRA

<sup>3</sup> Professora do Curso de Medicina e do PPGBioSaúde, Coordenadora do Laboratório de Células-Tronco e Engenharia de Tecidos, ULBRA

<sup>4</sup> Professora dos Cursos de Medicina e Biomedicina e do PPGBioSaúde, Coordenadora do Laboratório de Biologia do Câncer, ULBRA

### INTRODUÇÃO

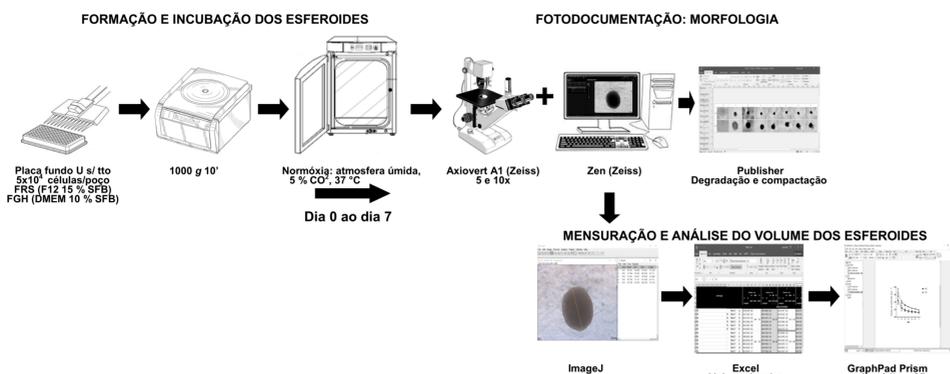
O câncer de boca corresponde a 40 % dos cânceres de cabeça e pescoço. Ele é predominante em homens com idade superior a 40 anos, seja no Brasil ou em outros países e o tratamento é realizado por cirurgia, radioterapia ou quimioterapia. Esferoide é o cultivo de células agregadas em três dimensões, o que mimetiza a região de hipóxia, o metabolismo e a morfologia dos tumores *in vivo*. A hipóxia altera o ciclo celular e a distribuição das células quiescentes por serem radorresistentes.

### OBJETIVO

Avaliar o efeito da hipóxia e da radiação ionizante em esferoides do cultivo primário FRS (cistoadenocarcinoma papilífero da glândula salivar menor) quanto a morfologia e viabilidade celular.

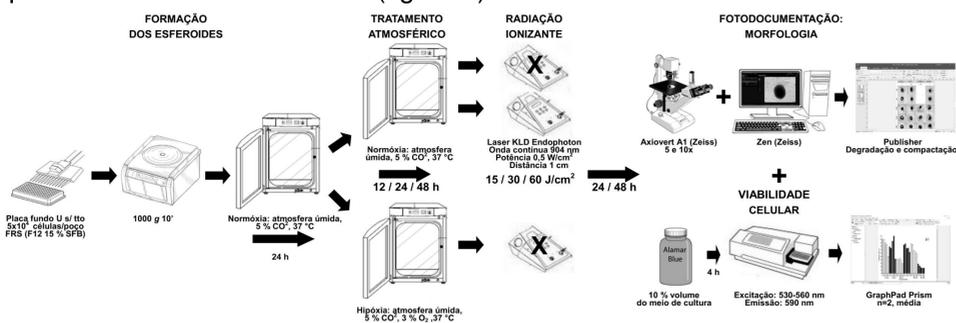
### MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos da ULBRA (nº 668.455/2014). A cinética dos esferoides FRS e FGH (linhagem de fibroblasto de gengiva normal) foi realizada conforme a figura 1. Na análise morfológica considerou-se a formação, a degradação celular (halos) e a compactação dos esferoides (alteração da agregação celular observada pela tonalidade).



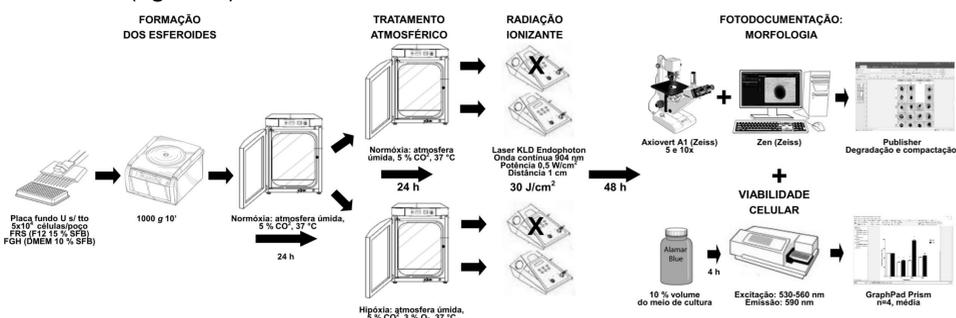
**Figura 1:** Etapas da cinética dos esferoides FRS e FGH entre o dia 0 e 7: formação e incubação, fotodocumentação, análise morfológica e mensuração do volume.

A partir dos dados da cinética dos esferoides, foi realizado o estudo piloto com os esferoides FRS (figura 2).



**Figura 2:** Etapas do estudo piloto: formação dos esferoides, tratamento atmosférico por 12, 24 e 48 h, radiação ionizante nas doses de 15, 30 e 60 J/cm<sup>2</sup>, viabilidade celular após 24 e 48 h e análise da morfologia de cada etapa do estudo.

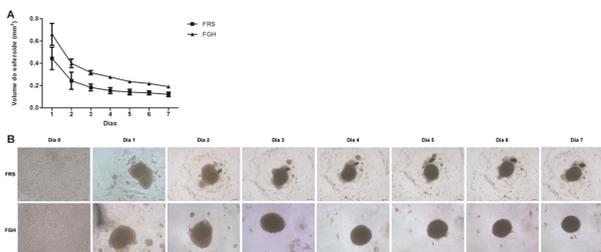
Mediante os resultados do estudo piloto, os esferoides FRS e FGH foram expostos aos tratamentos atmosféricos associados ou não a radiação ionizante (figura 3).



**Figura 3:** Etapas dos tratamentos: formação dos esferoides FRS, tratamento atmosférico por 24 h, radiação ionizante em 30 J/cm<sup>2</sup>, viabilidade celular após 48 h de término dos tratamentos e análise da morfologia de cada etapa do estudo.

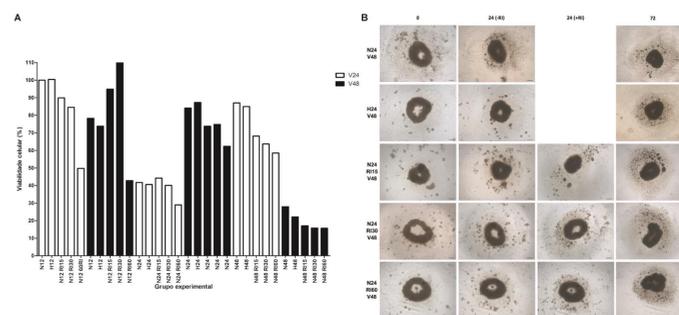
### RESULTADOS

O volume e a morfologia dos esferoides FRS e FGH durante a cinética estão apresentados nas figuras 4A e 4B, respectivamente. Ambos esferoides regrediram o volume por degradação celular ou condensação.



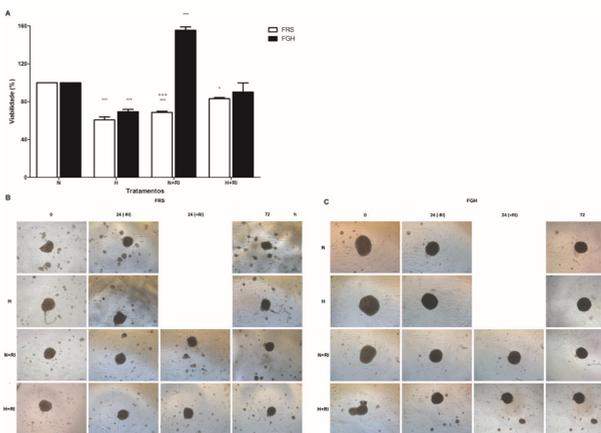
**Figura 4:** Cinética dos esferoides FRS e FGH entre o dia 0 e 7. **A.** Volume dos esferoides (mm<sup>3</sup>); resultados em média e SD, n = 6. **B.** Morfologia dos esferoides. Barra: 100 µm.

A viabilidade celular e morfologia do estudo piloto encontram-se nas figuras 5A e 5B, em ordem. As melhores condições foram: tratamento atmosférico por 24 h, radiação ionizante de 30 J/cm<sup>2</sup> e viabilidade celular após 48 h. As células agregam-se, formam os esferoides por compactação e preenchendo a região central.



**Figura 5:** Estudo piloto dos esferoides FRS. **A.** Viabilidade celular dos grupos experimentais em relação ao grupo N12 V24; resultados em %, n = 2. **B.** Morfologia dos esferoides expostos a 24 h de tratamento atmosférico e análise da viabilidade celular após 48 h. N: normóxia; H: hipóxia; RI: radiação ionizante; V: viabilidade celular. 0 h: início do tratamento; 24 h (-RI)/(+RI): 24 h de tratamento atmosférico antes/após radiação ionizante; 72 h: após 48 h de tratamento. Barra: 100 µm.

A análise da viabilidade celular dos tratamentos e a morfologia dos esferoides FRS e FGH estão apresentadas nas figuras 6A e 6B, em ordem. Os presentes achados sobre a irradiação corroboram com Liang et al. (2015) quanto a viabilidade reduzir em células de câncer boca e elevar nas FGH.



**Figura 6:** Exposição dos esferoides FRS e FGH a 24 h de tratamento atmosférico e análise da viabilidade celular após 48 h. **A.** Viabilidade celular dos esferoides em relação ao tratamento de normóxia em cada esferoide (\*) ou em relação ao tratamento normóxia nos esferoides FGH(+). Resultados em %, n = 4; \*\*\*/+++ (p>0,001); \*\* (p>0,01); \* (p>0,05). **B.** Morfologia dos esferoides FRS. **C.** Morfologia dos esferoides FGH. Barra: 100 µm.

### CONCLUSÃO

A hipóxia reduz a viabilidade celular nos esferoides FRS e FGH, já a irradiação de 30 J/cm<sup>2</sup> apresenta seletividade. A radiação ionizante reduz a viabilidade nos esferoides de câncer de boca e eleva nos FGH.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Cancer Society. Oral cavity and oropharyngeal cancer. 2015. Disponível em: [www.cancer.org/cancer/oralcavityandoropharyngealcancer/detailedguide/index](http://www.cancer.org/cancer/oralcavityandoropharyngealcancer/detailedguide/index). Acesso em: 20 mai. 2015.

Biau J, Chautard E, Miroir J, et al. Paramètres de radorrésistance des cancers des voies aérodigestives supérieures et stratégies de radiosensibilisation. *Cancer Radiother.* 2015;19: 337–46.

Hirschhaeuser F, Menne H, Dittfeld C, et al. Multicellular tumor spheroids: An underestimated tool is catching up again. *J Biotechnol.* 2010;148: 3–15.

Liang W, Liu P, Fu E, et al. Selective cytotoxic effects of low-power laser irradiation on human oral cancer cells. *Lasers Surg Med.* 2015;9: 756-64.

Yuhás JM, Li AP, Martínez AO, et al. A simplified method for production and growth of multicellular tumor spheroids. *Cancer Res.* 1977;37: 3639-43.