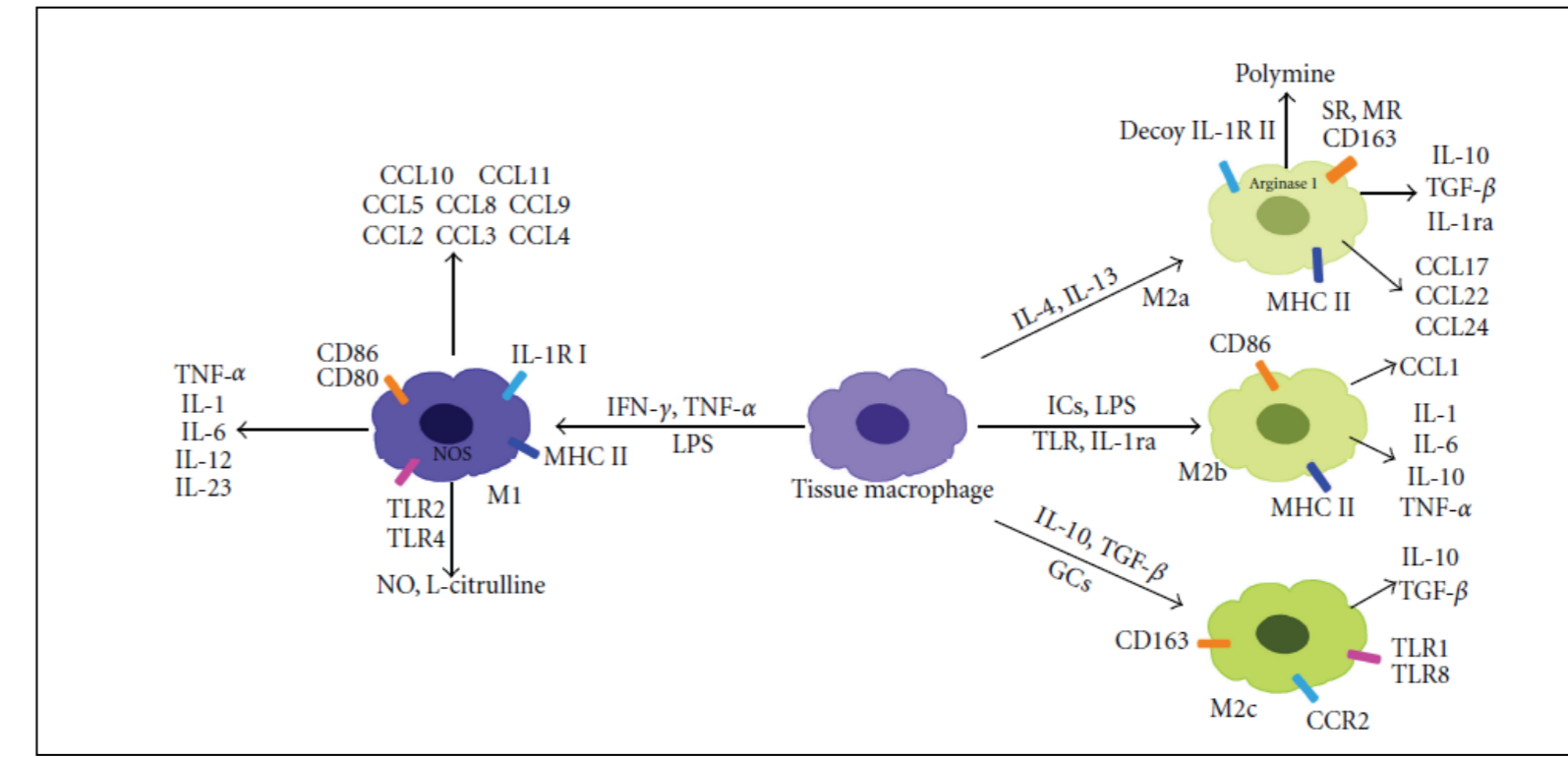


INTRODUÇÃO

- ✓ O microambiente tumoral é definido como um conjunto de células e moléculas que são recrutadas/liberados pelas células tumorais.
- ✓ Macrófagos associados a tumores (TAMs) possuem um papel chave na progressão tumoral e podem adquirir fenótipos distintos, denominados M1 e M2.
- ✓ O enótipo M1 é descrito na literatura como antitumoral; já o M2 está relacionado a um pior prognóstico em vários tipos de tumores.

OBJETIVOS

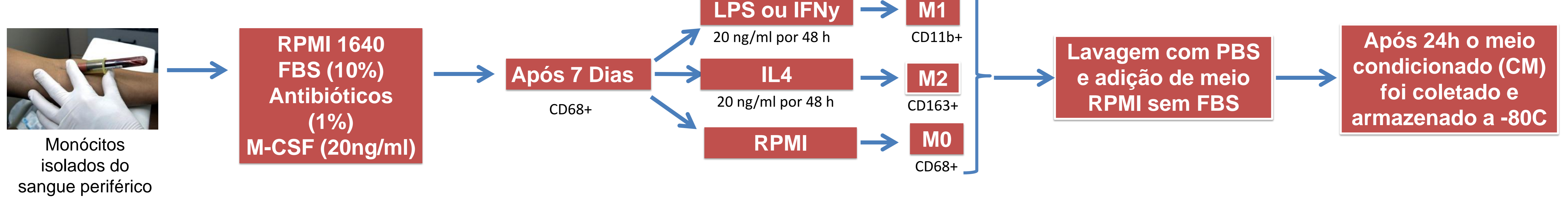
- ✓ Analisar os efeitos de meios condicionados derivados de macrófagos polarizados (CM) sobre o processo de migração de células de carcinoma oral.



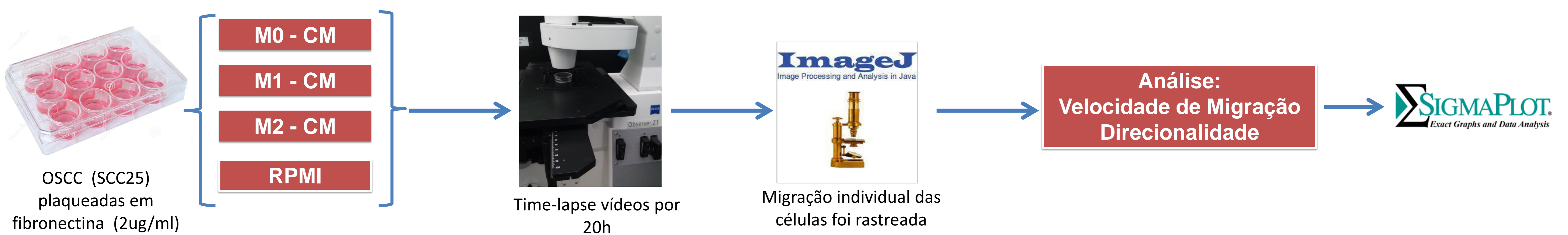
Macrophages in Tumor Microenvironments and the Progression of Tumors. HAO et al. Clinical and Developmental Immunology Volume 2012.

METODOLOGIA

ISOLAMENTO, DIFERENCIAÇÃO e MEIO CONDICIONADO



CULTURA DE OSCC EM MEIO CONDICIONADO E ANÁLISES



RESULTADOS

Macrófagos em Cultura

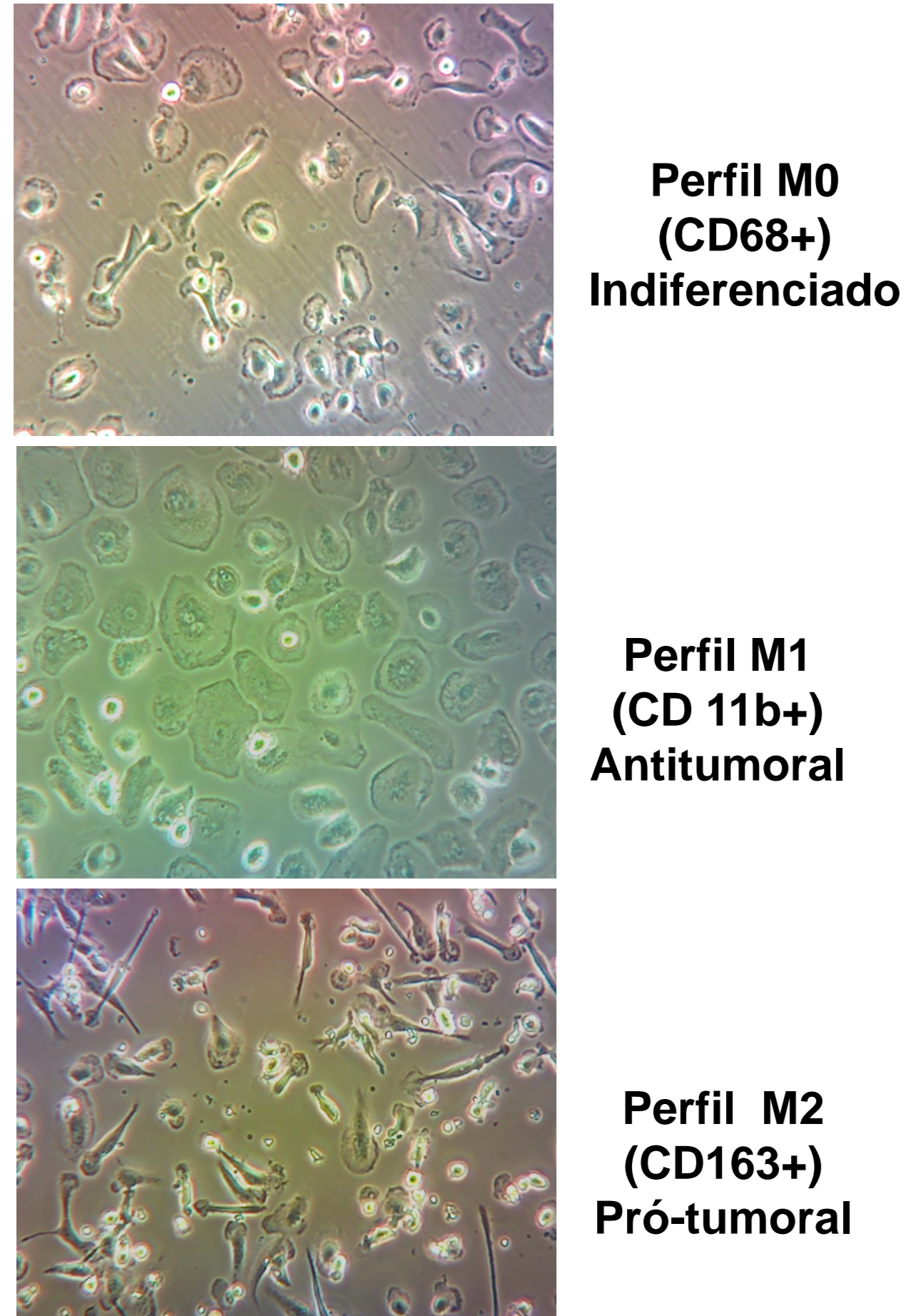


Fig 1 - Polarização de macrófagos afeta a morfologia: Em cultura observa-se que M1 apresentam uma morfologia mais arredondada enquanto que os M2 são mais alongados.

Meio condicionado M1 (antitumoral) diminuiu a velocidade de migração e a direcionalidade de OSCC - SCC25

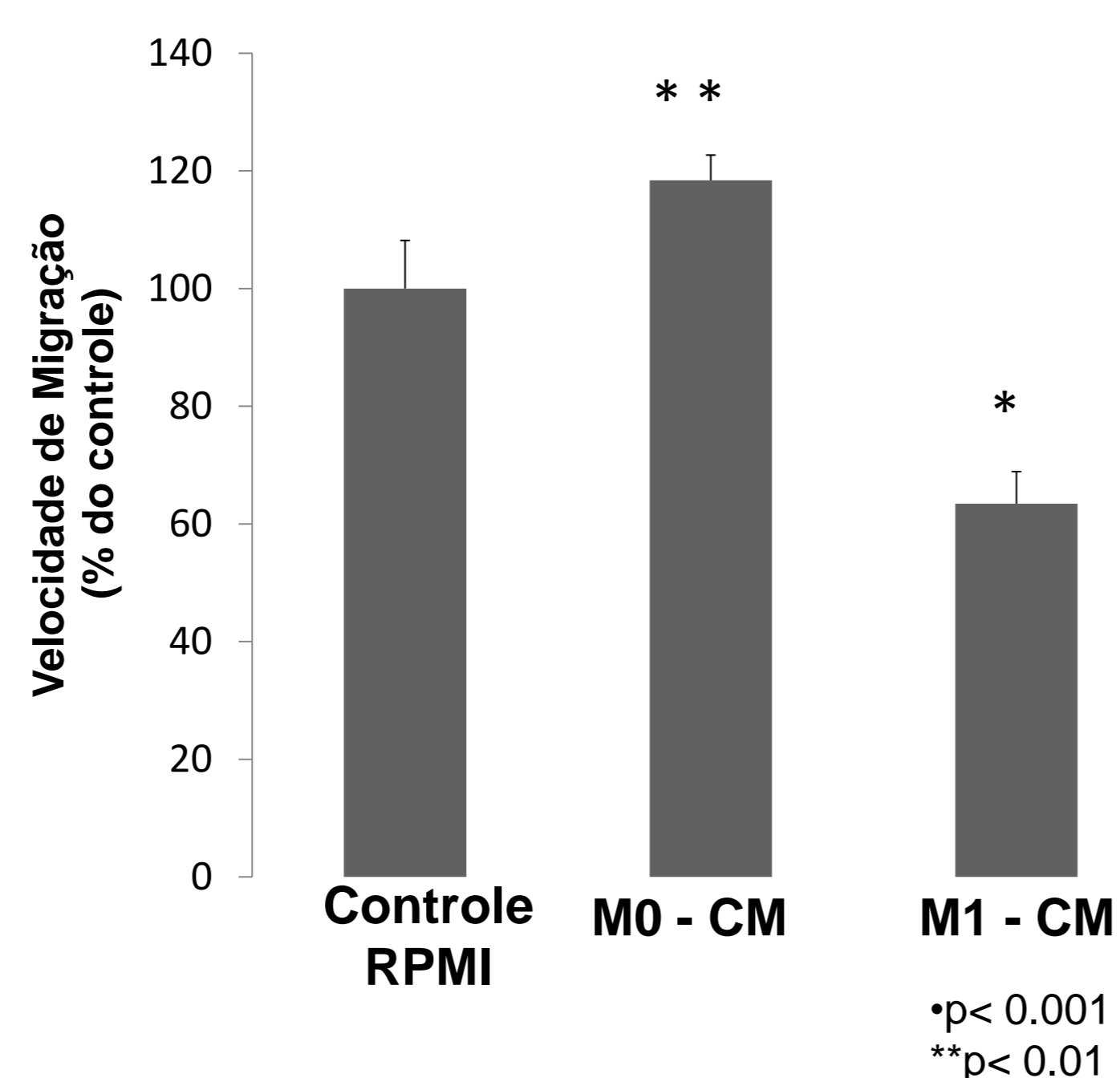


Fig 2 - Meio condicionado de macrófago altera a migração de células tumorais: análise da velocidade de migração indicou que M0-CM (macrófagos indiferenciados) aumentou a velocidade de migração de OSCC em 17% (desvio: + - 4,30, n=3), enquanto M1-CM diminuiu a velocidade de migração em 37% (desvio: + - 5,45, n=3) quando comparado ao controle. Análise estatística: Teste T Student.

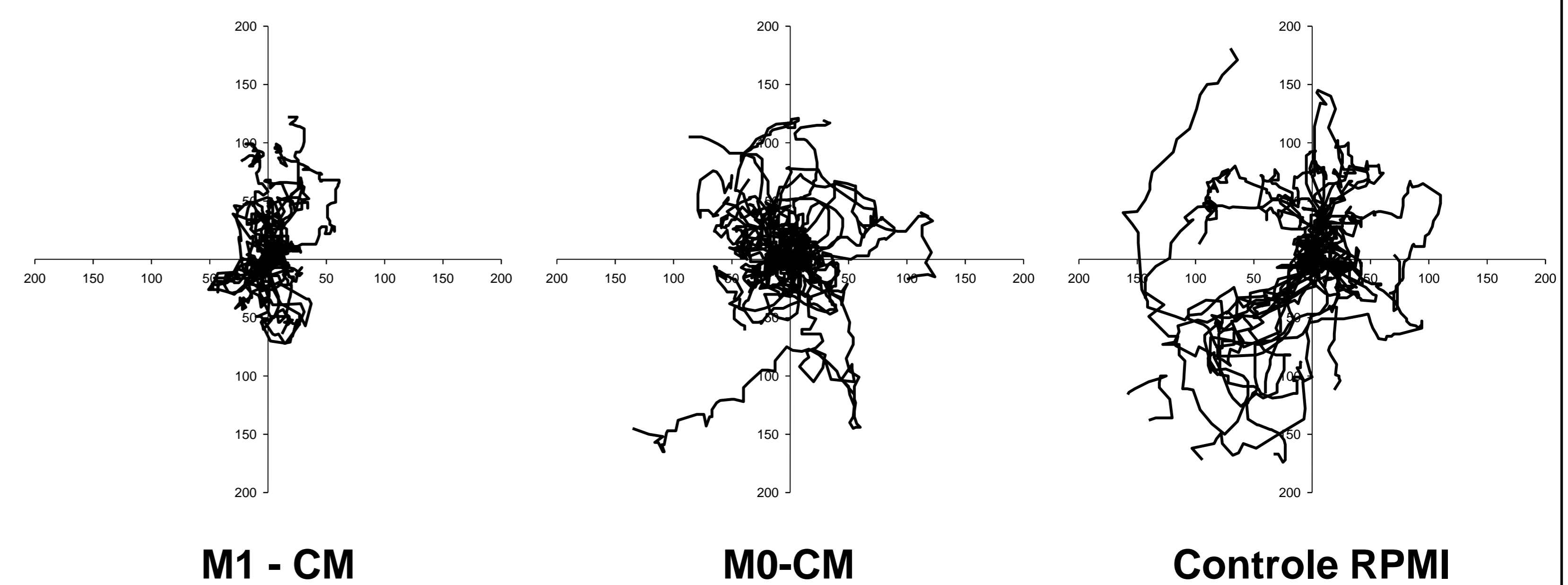


Fig 3 - Meio condicionado de macrófago altera a direcionalidade da migração de células tumorais: as coordenadas X e Y de migração foram normalizadas para começar de um ponto virtual X=0 e Y=0. Cada linha no plot representa a trajetória espacial de uma célula. Observa-se que M1-CM (antitumoral) leva a perda da direcionalidade em SCC25, onde as células ficam próximas do ponto de partida quando comparado ao controle. (n=3 experimentos independentes)

CONCLUSÃO

Conclui-se que, de acordo com a polarização dos macrófagos, pode-se levar a alterações no perfil de migração celular em células tumorais, sendo que a sua ação provavelmente está relacionada com o perfil de citocinas liberadas por macrófagos em diferentes polarizações.

RESUMO

O microambiente tumoral é definido como um conjunto de células e moléculas que são recrutadas/liberados pelas células tumorais. Macrófagos associados a tumores (TAMs) possuem um papel chave na progressão tumoral e podem adquirir fenótipos distintos, denominados M1 e M2. O fenótipo M1 é descrito na literatura como antitumoral; já o M2 está relacionado a um pior prognóstico em vários tipos de tumores. Nossa hipótese é de que os macrófagos podem influenciar os processos de migração celular modulando a progressão e invasão tumoral. Nosso objetivo foi analisar os efeitos de meios condicionados derivados de macrófagos (CM) sobre o processo de migração de células de carcinoma oral. Monócitos foram isolados a partir de sangue periférico, cultivados em RPMI suplementado com soro fetal bovino (FBS 10%), antibióticos e fator estimulador de colônias de macrófagos (20ng/ml) por sete dias. Após este período, adicionou-se ao meio IFN γ (20ng/ml) para diferenciação em M1; IL-4 (20ng/ml) para diferenciação em M2 ou se manteve o meio RPMI para obtenção de macrófagos não diferenciados (M0). Após 48 horas de diferenciação, os subtipos de macrófagos foram cultivados em meio RPMI por 24h, sendo este meio condicionado coletado e armazenado (-80°C). A verificação da efetiva polarização foi realizada por citometria de fluxo usando marcadores de superfície CD11b + (M1), CD68 + (macrófagos) e CD163 + (M2). Para analisar os efeitos dos MCs sobre a migração tumoral, foram realizados ensaios de migração com a linhagem de células tumorais orais (SCC25), estas foram plaqueadas em fibronectina (2 μ g/ml) na presença dos CM (M1, M2, M0) ou somente em RPMI. As células foram acompanhadas por meio de vídeo time-lapse durante 20 horas com fotos a cada 10 minutos. Utilizando o programa ImageJ as células foram rastreadas individualmente e os valores foram utilizados para quantificar a velocidade de migração e a direcionalidade. Observou-se que M1-CM induziu diminuição da velocidade de migração em 37% (n=3, p < 0,001), enquanto M0-CM aumentou a velocidade em 17% (n=3, p = 0,01), quando comparado com o respectivo controle. Os resultados de M2-CM estão em análise. Conclui-se que, de acordo com a polarização dos macrófagos, pode-se levar a alterações no perfil de migração celular em células tumorais, sendo que a sua ação provavelmente está relacionada com o perfil de citocinas liberadas por macrófagos em diferentes polarizações.