

# Modelo de esferoide: uma abordagem tridimensional para triagem de drogas antitumorais *in vitro*

Luiza Deitos Menti<sup>1\*</sup>, Marcelo Lazzaron Lamers<sup>1,2</sup>

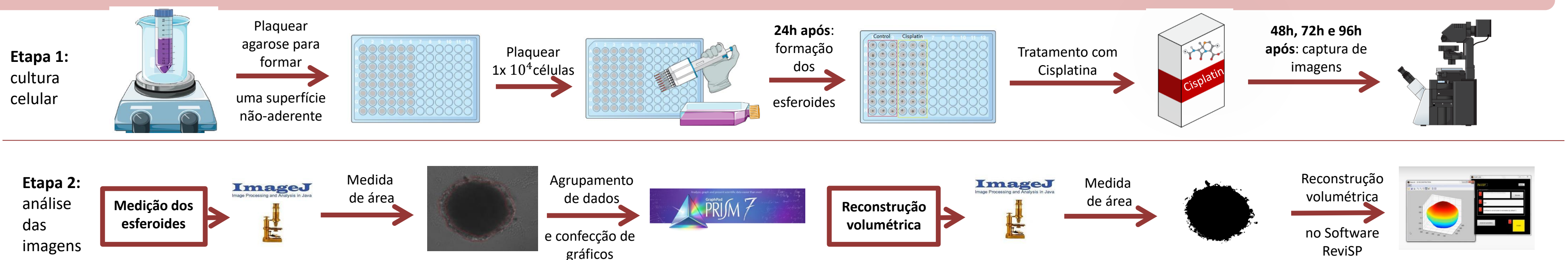
(1) Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

(2) Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.  
luizadeitosmenti@hotmail.com

## Introdução

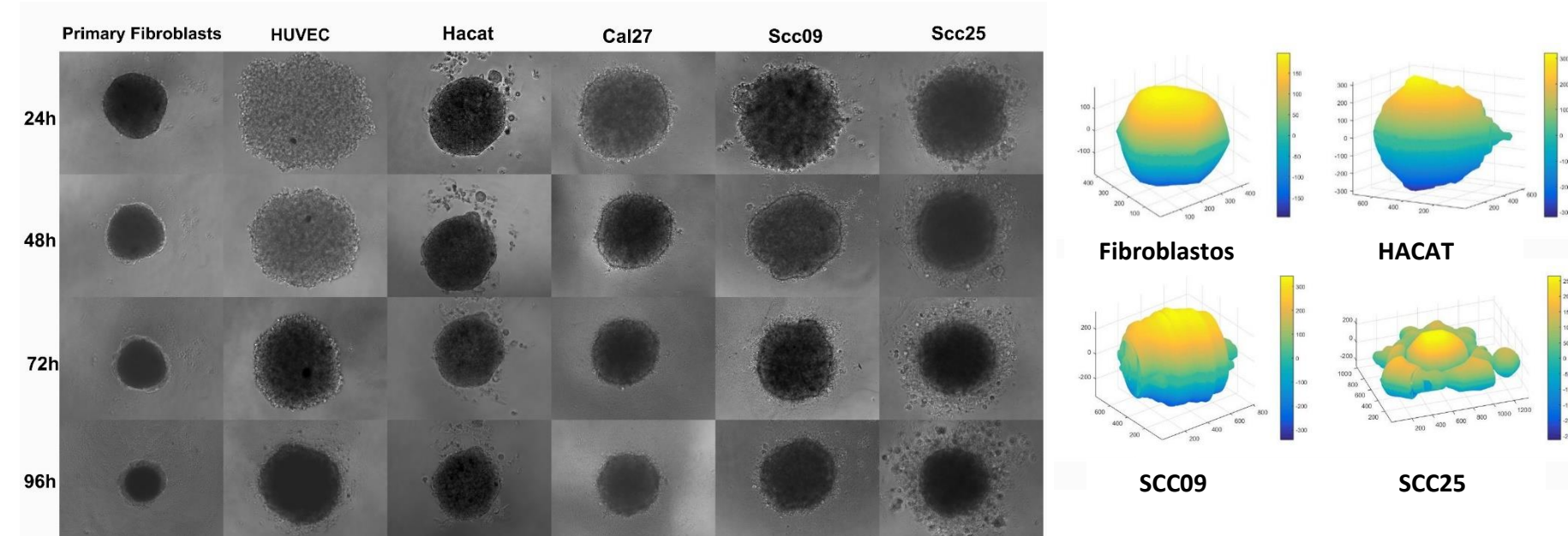
A cultura celular bidimensional ainda é amplamente utilizada para triagem de substâncias antitumorais, mas ela não reproduz tão fielmente o microambiente tumoral, já que as células aderem a uma superfície plana e plástica, mudando assim sua morfologia e comportamento. O ensaio de esferoides é um método tridimensional que exibe maior representatividade e eficácia quando comparado à cultura 2D por ser capaz de mimetizar condições de adesão célula-célula, hipóxia, morfologia celular e gradiente de penetração de drogas que ocorre *in vivo*. **O objetivo desse estudo foi avaliar a habilidade de diferentes linhagens celulares em formar esferoides em modelo tridimensional e validar esse ensaio como uma plataforma de triagem de drogas para carcinoma espinocelular oral.**

## Métodos

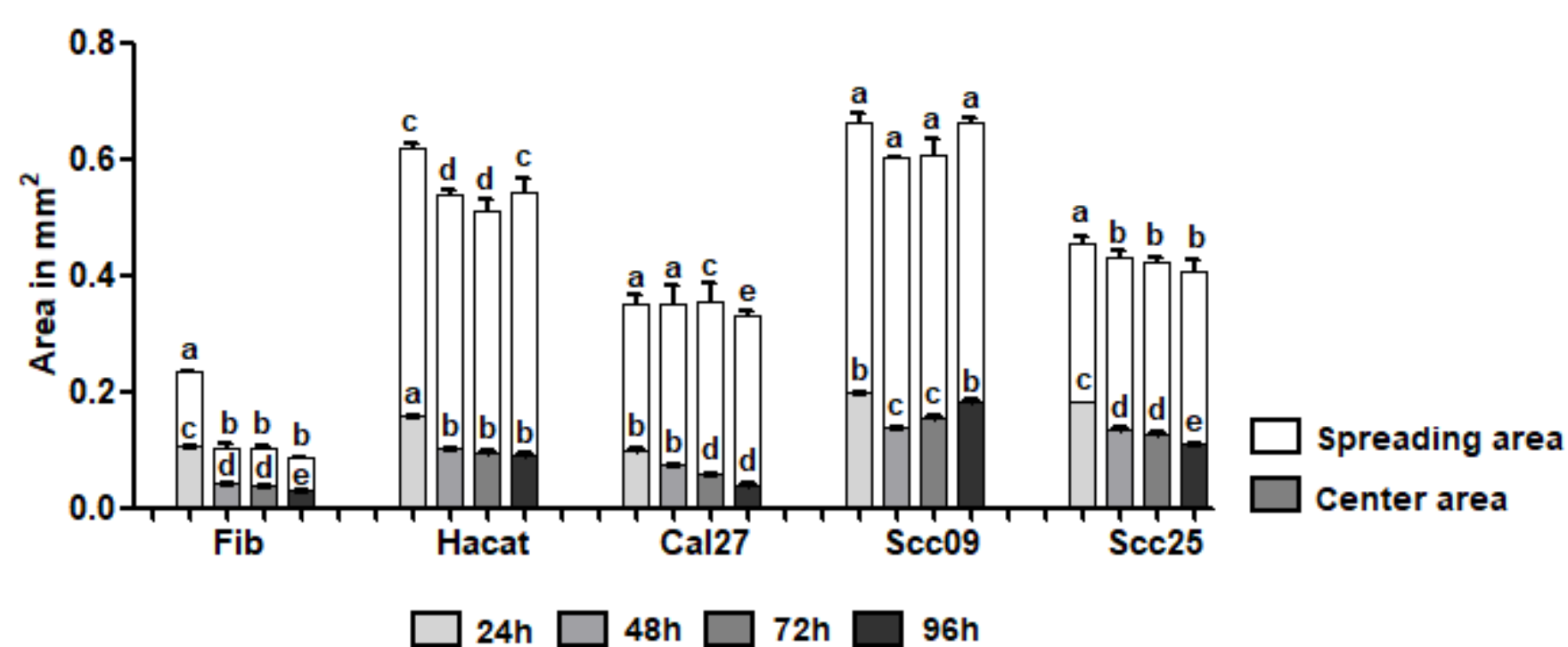


## Resultados

### 1. Diferentes linhagens celulares podem ser utilizadas no ensaio de esferoides



**FIGURA 1:** A- Ensaio de esferoides com fibroblastos primários, queratinócitos (HACAT), células endoteliais (HUVEC) e células de carcinoma espinocelular oral mais invasivas (SCC9 e SCC25) e menos invasivas (CAL27). B- Volume reconstruído através do Software RevisP, <http://sourceforge.net/p/revisp/>.

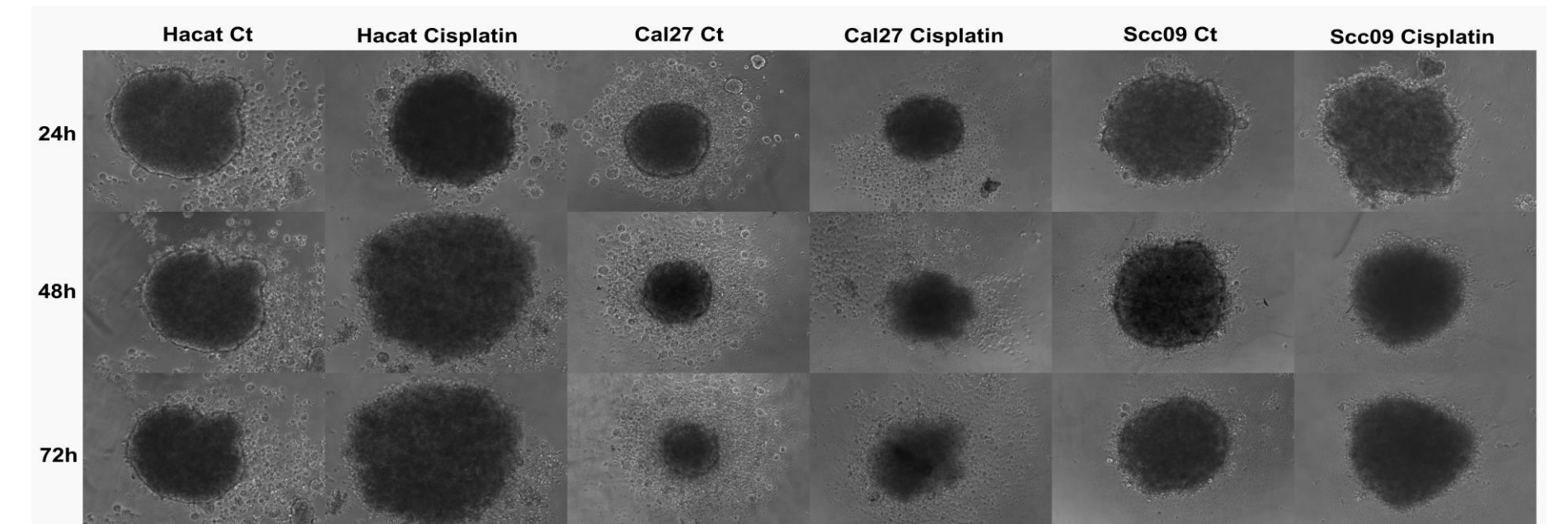


**GRÁFICO 1:** Avaliação quantitativa dos esferoides indicando que não há diferença significativa entre o centro do esferoide quando comparado com a área dispersa nas linhagens epiteliais não tratadas. Além disso, esses resultados mostram que os fibroblastos formam esferas mais sólidas e coesas se comparadas às outras linhagens celulares. Análise de variância (ANOVA) e pós-teste Bonferroni,  $p < 0.05$ .

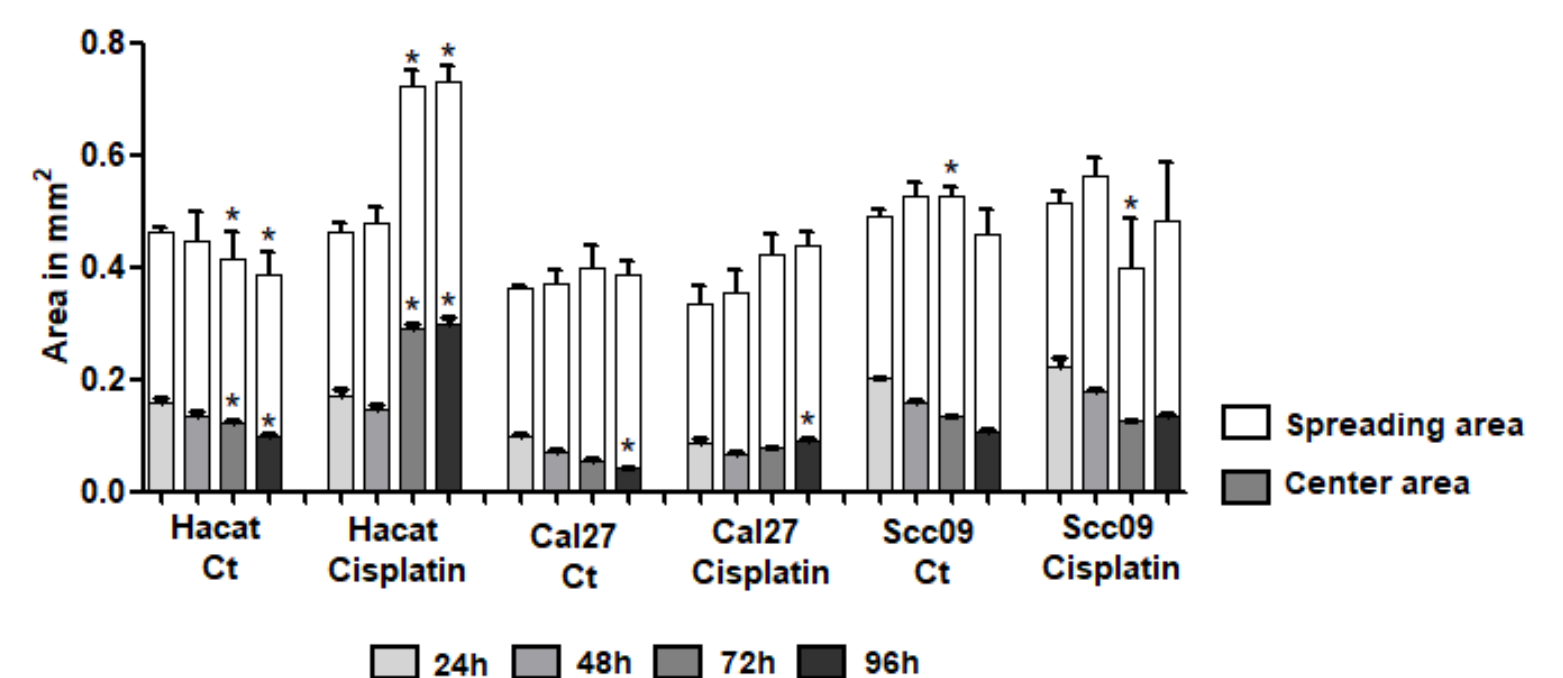
## Resumo

O câncer é um problema de saúde pública no mundo todo e é a segunda maior causa de morte no Brasil. A maioria dos pesquisadores visam encontrar drogas que possuam ação antitumoral com mínimos efeitos em células normais do organismo. Sendo assim, a triagem de drogas pode ser realizada utilizando a cultura tridimensional, como o ensaio de esferoides. Esse ensaio 3D mostra-se mais representativo e vantajoso quando comparado à cultura 2D, pois é capaz de mimetizar condições de adesão célula-célula, hipóxia, morfologia celular (modelo mimético) e gradiente de penetração de drogas que ocorrem *in vivo* e pode ser usada como suporte antes da utilização de pesquisas em animais. O objetivo desse estudo foi realizar um modelo de esferoide com células de carcinoma espinocelular oral para triagem de substâncias antitumorais e assim, comparar seus efeitos em células normais. O ensaio de esferoides foi realizado plaqueando  $1 \times 10^4$  células em uma placa de 96 poços com superfície de baixa adesão, o que induziu as células a formarem uma esfera. As células utilizadas nesse trabalho foram fibroblastos primários, queratinócitos (HACAT), células endoteliais (HUVEC) e de carcinoma espinocelular oral (SCC9, SCC25 e CAL27). Após 24h, os esferoides foram tratados com cisplatina, um dos quimioterápicos mais utilizados para tratamento de câncer de cabeça e pescoço, e seus efeitos foram analisados qualitativamente e quantitativamente. Desta forma, foram realizadas fotos em microscópio invertido após 24h, 48h e 72h do início do tratamento. A análise das imagens foi realizada medindo a área das esferas por meio do software ImageJ. Foi observado que, os esferoides tratados apresentaram maior área externa – correspondente ao espalhamento das células – quando comparado aos controles, indicando a capacidade de penetração das drogas e mostrando a dispersão devido à redução da adesão celular. (Aprovado pelo Comitê de Ética – 41091314.400005327).

### 2. Cisplatina desencadeia perda de coesão entre as células em todas linhagens celulares testadas



**FIGURA 2:** Tratamento com cisplatina em HACAT, CAL27 e SCC9 comparado ao grupo controle. Com uma concentração de  $20 \mu\text{g/ml}$  de Cisplatina, os esferoides demonstram aumento na área de externa pela perda de coesão entre as células.



**GRÁFICO 2:** Esferoides tratados com Cisplatina foram medidos e demonstraram um espalhamento da área externa. Para comparar a área externa e central dos esferoides entre os grupos tratado e controle, foi aplicado a análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste Bonferroni. Foi observado aumento na área externa dos grupos tratados em todas linhagens celulares, porém mais acentuado seus efeitos em HACAT.

## Conclusões

Foi observado que o ensaio de esferoide pode ser realizado com diversas linhagens celulares para avaliar seu comportamento quando tratado com drogas antitumorais. Além disso, os esferoides tratados com Cisplatina apresentam maior área quando comparado com o grupo não-tratado, indicando capacidade de penetração de drogas e que essa dispersão ocorre devido à perda de coesão entre as células. Também foi observado que a Cisplatina teve maior efeito nos queratinócitos, sugerindo toxicidade.

## Referências

- Zanoni, M. et al. 3D tumor spheroid models for a *in vitro* therapeutic screening: a systematic approach to enhance the biological relevance of data obtained. *Scientific Reports*. 2016.
- Vinci M, Gowan S, Boxall F, et al. Advances in establishment and analysis of three-dimensional tumor spheroid-based functional assays for target validation and drug evaluation. *BMC Biology*. 2012.
- Jeppesen M, Hage G, Glenthøj A, Vainer B, Ibsen P, et al. Short-term spheroid culture of primary colorectal cancer cells as an *in vitro* model for personalizing cancer medicine. *PLOS ONE*. 2017.

## Funding Support