

Análise morfométrica de esferóides de câncer cervical obtidos por hanging drop

Davi Piovesan Echevarria¹, Thaís de Araújo Bitencourt¹, Gabriele Silva Mentz¹, Gabriel Stracke Oliveira¹, Eduardo Cremonese Filippi-Chiela¹, Alessandra Nejar Bruno^{1*}

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) - *Campus*
Porto Alegre. Porto Alegre, RS.

*Orientador(a)

Apesar de reconhecido pela OMS como uma patologia passível de erradicação e alvo de rastreamento populacional, o câncer cervical ainda é um problema de saúde pública. No Brasil, essa neoplasia é a terceira causa de mortes por câncer entre as mulheres e uma significativa parcela dos casos é descoberta em estágios avançados, onde os tratamentos são pouco efetivos e ocasionam efeitos adversos e possibilidade de resistência. Assim, o estudo da biologia tumoral e novas terapias é essencial. Entretanto, as metodologias *in vitro* empregadas para o estudo do câncer cervical falham em replicar características do tecido tumoral *in vivo*, pois são baseadas em monocamadas. A arquitetura tecidual, contato célula-célula, componentes de matriz extracelular e fenótipo espaço-dependente afetam a ação de compostos. Por isso, muitos protótipos de fármacos têm sua atividade superestimada em culturas bidimensionais já que elas ignoram essas propriedades. Nesse sentido, culturas tridimensionais, que buscam replicar o aspecto multicelular do tecido, vêm recebendo atenção. Essas metodologias empregam materiais onerosos ou equipamentos e procedimentos de difícil acesso e replicação, impossibilitando a ampla implementação dessas técnicas. Recentemente, uma técnica baseada em hanging drop que emprega materiais de baixo custo presentes em laboratórios de biologia celular e procedimentos de baixa complexidade foi descrita. Dessa maneira, o presente estudo objetivou obter culturas tridimensionais de câncer cervical através da metodologia descrita por Moraes et al. Para isso, os poços de uma placa de 48 poços foram revestidos com agarose enquanto 25 mil células SiHa foram semeadas na tampa da placa, em gotas de meio DMEM high ou low glicose. As gotas foram mantidas sob os poços por 96 h em estufa a 37°C com injeção de CO₂ e, após isso, o volume do poço foi completado com excesso de meio de cultura para transferir o esferóide ao fundo do poço. Os esferóides foram fotografados e o meio de cultivo substituído a cada 7 dias. Os esferóides obtidos em meio high apresentaram diâmetro médio de 650 µm no início do período e de 780 µm no fim do período, enquanto em meio low de 700 e 900 µm. A densidade das esferas aumentou ao longo do período, indicando uma compactação das estruturas. A área bidimensional dos esferóides apresentou um aumento tempo-dependente, especialmente para SiHa em low, opondo-se ao descrito na literatura. A circularidade, em ambas as condições, aumentou após 7 dias mantendo-se até o fim do período, conforme constatado pelos parâmetros esfericidade e relação de raio. Os resultados parciais aqui relatados indicam que esferóides de câncer cervical podem ser obtidos pela metodologia descrita. As estruturas obtidas serão submetidas a outras técnicas para caracterização da organização celular como processamento histológico, coloração e imunohistoquímica e após padronização, serão utilizadas em ensaios de investigação de novos compostos antitumorais.

Palavras-chave: Câncer cervical; Cultura tridimensional; Hanging drop.