

Efeito da radiação ionizante (gama, ^{60}Co) em esferoides de adenocarcinoma mamário

Pamela Ferreira do Nascimento e Daniel Perez Vieira
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN-CNEN

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é estimado com o maior índice de casos no mundo na população feminina. Foram calculados 2.088.849 casos de incidência e 626.679 mortes em todo o mundo em 2018 [1]. Na cultura 3D as células tumorais tendem a ter sensibilidade diferente às drogas antitumorais do que na cultura 2D [2].

OBJETIVO

Avaliar a ação da radiação ionizante (^{60}Co) em esferoides de células de adenocarcinoma de mama no que se refere à mortalidade celular].

METODOLOGIA

Cultura celular: Células MCF7 (ATCC HTB-22), linhagem de células de adenocarcinoma mamário humano, foram cultivadas em meio RPMI-1640 com 10% de soro fetal bovino até a levitação magnética. **Adsorção de nanopartículas de magnetita na superfície das células MCF7:** Nanopartículas de magnetita foram sintetizadas de acordo com modificações de protocolo descrito [3]. O colóide foi adicionado às células em suspensão, e centrifugadas e ressuspendidas três vezes em meio de cultura com nanopartículas. Após este procedimento, foram postas em cultura conforme descrito por 24 horas. **Produção de esferoides:** 3×10^3 células /poço foram depositadas em placas de 96 poços tratadas com Pluronic-F127 para impedir a adesão celular. Os agregados celulares foram formados por ação de ímãs de neodímio posicionados em cada poço. **Irradiações:** Esferoides

produzidos 5 dias foram irradiados em dose radioterápica (2Gy) por radiação gama em fonte de ^{60}Co (GammaCell) presente no Centro de Tecnologia das Radiações (CETER/IPEN). **Ensaio de microscopia de fluorescência:** Imediatamente após a irradiação, os esferoides receberam meio de cultura (120 μL) com SYTOXTM Green (1,2 μM). Duas horas antes da aquisição das imagens, as culturas receberam 10 μL de Hoechst 33342 diluído em meio de cultura (0,45 $\mu\text{g}/\text{mL}$). A incubação foi realizada como descrito até o momento da aquisição das imagens. **Aquisição das imagens:** As imagens foram adquiridas no equipamento INCell Analyzer 2500 HS (Cytiva Lifesciences), 24, 48 e 72 horas após as irradiações, para detecção das fluorescências em azul, verde e campo claro, e em 10 planos focais consecutivos para posterior análise de volume. As análises foram realizadas no software INCarta 1.14 (Cytiva Lifesciences), avaliando número total de células, número de células mortas, porcentagem de células mortas em relação ao total, volume do esferoide, esfericidade do esferoide, volume dos núcleos e volume dos núcleos de células mortas. Os resultados foram reunidos em gráficos e analisados por análise de variância (ANOVA), com pós-teste segundo Tukey usando o software Prism 8.01 (GraphPad).

RESULTADOS

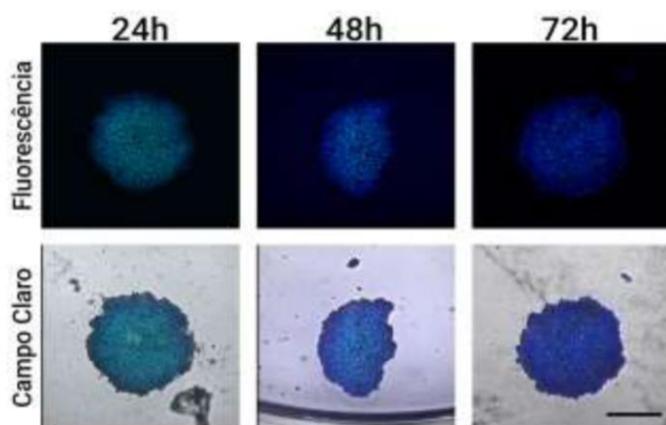


Figura 1: Esferoides 24, 48 e 72h após as irradiações.

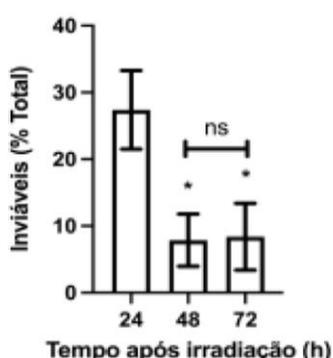


Figura 2: Número de células mortas 24, 48 e 72h após as irradiações.

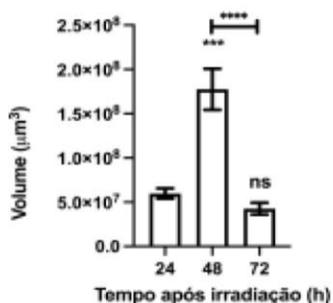


Figura 3: Volume dos esferoides 24, 48 e 72h após as irradiações.

CONCLUSÕES

A técnica é viável para avaliação de mortalidade celular em esferoides. Aumento de volume 48h após a irradiação pode

significar proliferação celular, uma vez que a quantidade de células mortas cai no mesmo dia após irradiação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] IARC - World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention – 2018.

[2] Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski Ł, Lamperska K. 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. Arch Med Sci. 2018 Jun;14(4):910-919. doi: 10.5114/aoms.2016.63743.

[3] Bonfim, L., de Queiroz Souza Passos, P., de Oliveira Gonçalves, K. et al. Microwave-mediated synthesis of iron-oxide nanoparticles for use in magnetic levitation cell cultures. Appl Nanosci 9, 1707–1717 (2019). <https://doi.org/10.1007/s13204-019-00962-1>

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

PIBIC e IPEN-CNEN