

[823] **DESENVOLVIMENTO DE CULTIVO CELULAR TRIDIMENSIONAL PARA TESTES DE EFEITOS BIOLÓGICOS DAS RADIAÇÕES EM MODELOS TUMORAIS E NÃO-TUMORAIS**

LETICIA BONFIM*1; KARINA OLIVEIRA GONÇALVES2; DANIEL PEREZ VIEIRA1
1.IPEN/CNEN - SP, SAO PAULO, SP, BRASIL; 2.UNIFESP, DIADEMA, SP, BRASIL.

Introdução: Atualmente, os testes realizados para analisar fármacos com atividade antitumoral são realizados em modelos experimentais baseados em cultura celular em monocamadas ou 2 dimensões (2D) e, apesar da utilização em larga escala desta forma de cultivo, há evidências científicas de que a disposição celular em monocamadas não simula adequadamente a fisiologia tecidual, pois impede que as células expressem suas características de forma análoga à encontrada no organismo. O método de cultura celular em 3 dimensões (3D) vem recebendo atenção como uma maneira de simular o ambiente tumoral, pois permite a reorganização celular de forma a promover a interação célula-célula e com proteínas da matriz extracelular. O trabalho utiliza a levitação magnética, através da adição de nanopartículas de ferro às culturas e com o auxílio de ímãs. Células formam corpos tridimensionais suspensos na interface ar-líquido. O método pode produzir esferóides com alguns milímetros de diâmetro e com capacidade de serem mantidos viáveis por semanas em cultivo. A intenção é futuramente testar os efeitos das radiações ionizantes em culturas em 3D ao invés das tradicionais avaliações de viabilidade celular, proliferação de colônias e genotoxicidade realizadas em culturas em 2D.

Objetivos: 1) Padronizar a produção de nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4) aderentes às membranas celulares; 2) produzir corpos tridimensionais de células para obter um modelo tumoral (SK-MEL-37, melanoma humano) e um não-tumoral (CHO-KI, ovário de hamster). Metodologia: Linhagens Celulares: As células foram mantidas aderidas em garrafas de 25cm² de área de cultivo (Corning) em incubadoras específicas (37° C, 5% CO₂). Síntese de nanopartículas de óxido de ferro: As partículas foram produzidas por coprecipitação de Fe²⁺ e Fe³⁺ na proporção 1:2 em meio alcalino (pH: 13, NaOH) na presença de N₂. Após produção, as partículas foram sucessivamente atraídas por campo magnético e lavadas com água. Polietilenoglicol (PEG 4000) e lisina foram adsorvidos para criar as estruturas de adesão às células. Numa cultura com 5mL de meio de cultura foram adicionados 500µL de suspensão de partículas. Caracterização das partículas: As suspensões foram avaliadas por microscopia eletrônica e por FTIR. Cultura: Poços de placas de 96 poços receberam 70µL de agarose para inibição da adesão celular. Suspensões de SK-MEL-37 e de CHO-KI foram diluídas de forma a criar suspensões de 500 a 5000 células/poço. Após a semeadura, as placas foram cobertas com um arranjo de ímãs e mantidas em cultura por vários dias. Ao 5°, 7° e 9° dias os corpos nos poços foram fotografados em microscópio invertido e as áreas dos elementos medidas via software (ImageJ).

Resultados: A microscopia eletrônica mostrou partículas com cerca de 20nm de diâmetro. A análise por FTIR mostrou estiramentos compatíveis com as ligações do ferro com o aminoácido (Lisina). As imagens mostram a formação de corpos esféricos até o nono dia. Diâmetro dos esferóides de LnCap variou de (média±erro) 434,407±50,018 µm (5° dia) a 264,574±13,184 µm (9° dia). Culturas de CHO variaram de 229,237±5,278 a 236,719 µm no mesmo período.

Conclusão: Esferóides gerados por levitação magnética puderam ser medidos por meios digitais e comparados ao longo do experimento. A ferramenta poderá ser utilizada para testes de efeitos biológicos das radiações e/ou radiofármacos em cultura.

Palavras-chave: Nanotecnologia; esferóides; radiação