

CARACTERIZAÇÃO DE CULTIVO PRIMÁRIO DE CÂNCER DE BOCA

Gabriela Jouglard Vasques Amado¹, Maria do Amparo Veloso Magalhães², Ivana Grivicich⁵

¹Acadêmica do Curso de Medicina, Iniciação Científica CNPq no Laboratório de Biologia do Câncer, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA; ²Mestranda do Programa de Pós-Graduação Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA; ³Mestranda do Programa de Pós-Graduação Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA; ⁴Professora do Curso de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA; ⁵Professora do Curso de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Coordenadora do Laboratório de Biologia do Câncer, ULBRA

INTRODUÇÃO

O câncer de boca é um dos tumores mais comuns no mundo, ocupando no Brasil o sexto lugar entre todos os tipos de câncer. Acometem em maior escala indivíduos do sexo masculino e entre os principais fatores de risco estão o tabagismo, etilismo, radiação UV e infecções por HPV. Mais de 90% das lesões de boca é representada pelo carcinoma epidermoide, que exibe elevadas taxas de mortalidade.

Então, conhecer a carcinogênese, bem como a progressão tumoral, é fundamental para a melhoria das ações preventivas e terapêuticas nessa doença. Para isso, a caracterização de células derivadas de tumores torna-se de grande importância para elucidar mecanismos moleculares associados com as particularidades desses tumores de boca.

OBJETIVOS

Cultivar e caracterizar células derivadas de tumores de boca para elucidar mecanismos moleculares associados com as particularidades desses tumores.

METODOLOGIA

Para desenvolver o presente estudo foi colhida amostra do paciente FRS, masculino, 80 anos, fumante, alcoolista, com lesão em glândula salivar menor de região jugal à esquerda ressecada.

Parte da peça cirúrgica foi encaminhada para realização do cultivo celular. Inicialmente a peça foi mantida em meio de cultura F12 suplementado com 10% de soro fetal bovino para ocorrer o crescimento.

Entre as passagens 10 – 20 foram realizados testes de proliferação com contagem em Câmara de Neubauer; cariotipagem por cariótipo convencional (banda GTG), curva de dose-resposta com o antineoplásico cisplatina pelo ensaio colorimétrico MTT e ensaio clonogênico.

RESULTADOS

1- ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA

A análise anatomopatológica demonstrou ser um Cistoadenocarcinoma Papilífero (M84403 – grau de diferenciação G1 – bem diferenciado).

2- PROLIFERAÇÃO CELULAR

A proliferação, verificada com base no tempo de duplicação celular (*population doubling time*), mostrou duplicação da sua população celular em 40 horas.

3- CARIOTIPAGEM DA LINHAGEM

A avaliação citogenética, realizada por cariótipo convencional (banda GTG), mostrou como principais alterações numéricas: -Y, -5, -9, -16, -17, -19, -22; poliploidia (3n, 4n); e como principais alterações estruturais: cromossomo dicêntrico, quebra cromatídica, quebra centromérica, e translocação balanceada e não balanceada (Figura 1).

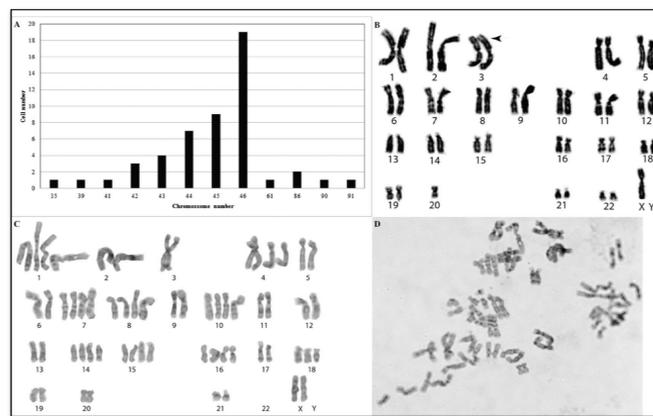


Figura 1: Análise cromossômica. (A) Distribuição do número de cromossomos por células. (B) Análise do cariótipo mostrando 44,X,-Y,inv(3)(p21;p26),-20. (C) Análise do cariótipo mostrasno 61,XX,-Y,-Y,-2,-2,-3,-3,-5,-5,-6,-6,-9,-9,-11,-11,-12,-12,-13,-13,-17,-17,-18,-19,-19,-20,-20,-21,-21,-22,-22,-22,-22 com hipotetraploidia. (D) Metáfase das células do tumor.

4- CURVA DE DOSE RESPOSTA COM ANTINEOPLÁSICO CISPLATINA

A curva de dose-resposta com a cisplatina mostrou valores de IC₅₀ de 8,16 ± 1,7 µg/mL, mostrando sensibilidade a cisplatina. Fato que corrobora com o resultado do tratamento da linhagem celular de câncer de boca KB, que também se mostrou sensível demonstrando valores de IC₅₀ de 6,87 ± 0,98 µg/mL.

5- ENSAIO CLONOGÊNICO

O ensaio clonogênico demonstrou que as células obtidas deste tumor foram capazes de formar colônias (Figura 2).

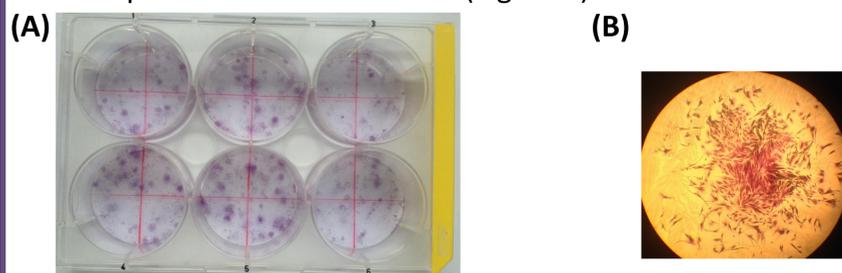


Figura 2: A) Placa mostrando as colônias formadas a partir das células do tumor primário. B) Detalhe da colônia (400x).

CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que é possível cultivar esse tumor; que as células cultivadas possuem um e comportamento cariótipo compatível com células neoplásicas. E que apresentam uma relativa sensibilidade ao antineoplásico cisplatina.

REFERÊNCIAS

1. INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil. Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. – Rio de Janeiro. p.118, 2011. www.inca.gov.br/estimativa/2012/index.asp?ID=5.
2. LOCKHART, P.B.; NORRIS, Jr C.M.; PULLIAM C. Dental factors in the genesis of squamous cell carcinoma of the oralcavity. Oral Oncology 1998; 34: 133- 139.

APOIO:

