



ANÁLISE COMPARATIVA DA EXPRESSÃO DOS GENES RELACIONADOS À METÁSTASE EM LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA (LN-18) NOS MOLDES 3D (ESFEROIDES) E 2D (MONOCAMADA).

Rafael Sousa de Oliveira¹; Octávio L. Franco²

¹Medicina – Universidade Católica de Brasília;

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia – Universidade Católica de Brasília.

E-mail rafaelsousa.oliveira@a.ucb.br; ocfranco@gmail.com.

RESUMO

O câncer representa um dos maiores desafios da saúde pública, com cerca de 10 milhões de óbitos anuais, sendo o glioblastoma (GBM) um dos tipos mais agressivos, caracterizados por crescimento infiltrativo, resistência terapêutica e baixa sobrevida. A pesquisa oncológica tradicional utiliza culturas 2D, que, apesar de sua praticidade, falham em reproduzir a complexidade do microambiente tumoral 3D, essencial para estudos de resistência e expressão gênica. Com isso, este estudo visa comparar a expressão dos genes relacionados à expansão metastática *COL1A1* (colágeno) e *CDH1* (E-caderina) na linhagem LN-18 de GBM em modelos 2D e 3D, buscando elucidar como a organização tridimensional influencia a expressão gênica e a progressão tumoral.

Palavras-chave: Glioblastoma, Cultivo celular, Cultivo 3D.

INTRODUÇÃO

O câncer representa um desafio complexo para a saúde pública mundial (Sung et al., 2020), com destaque para o glioblastoma, um tumor cerebral primário extremamente agressivo, de alto poder de infiltração e resistente aos tratamentos convencionais (Minniti et al., 2021). Uma vez que os tradicionais modelos de cultura celular bidimensionais (2D) são limitados e não conseguem reproduzir a complexa arquitetura e as interações do microambiente tumoral *in vivo* (Du et al., 2020), os sistemas de cultivo tridimensionais (3D) despontam como alternativas capazes de mimetizar fielmente a fisiologia dos tecidos (Braun et al., 2023; Lee et al., 2023). Inserido nesse contexto, este projeto tem o objetivo de avaliar a expressão relativa dos genes *COL1A1* e *CDH1* em células de glioblastoma (linhagem LN-18) cultivadas em 2D e 3D, testando a hipótese de que o modelo tridimensional modulará a expressão desses genes de forma a refletir um fenótipo de maior potencial invasivo e metastático.

OBJETIVO

Analisar e comparar a expressão dos genes relacionados à progressão e ao fenótipo metastático, *COL1A1* e *CDH1*, na linhagem celular de glioblastoma LN-18 cultivada em modelos bidimensionais (2D) e tridimensionais (3D), bem como estabelecer, caracterizar e validar as características morfológicas e o grau de mimetismo tumoral dos diferentes sistemas de cultivo.

MÉTODO



A fase inicial da metodologia consistiu na expansão de células de glioblastoma da linhagem LN-18 em um modelo de cultivo bidimensional (2D). Para garantir o suporte nutricional, utilizou-se o meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, mantendo as culturas em condições rigorosamente controladas de temperatura em estufa umidificada, com 95% de umidade e atmosfera de 5% de CO₂. Posteriormente, o estudo avançou para o estabelecimento de um modelo de cultivo tridimensional (3D) por meio da técnica de sobreposição celular. Para isso, foram criadas microplacas de agarose a 1,5% usando moldes de silicone fabricados a partir de placas *AggreWell* 800 e retrorrefletores de bicicleta, com o auxílio de uma bomba a vácuo para garantir a precisão estrutural e a ausência de bolhas de ar. Para avaliar o potencial invasivo, a plasticidade e a viabilidade das células, a equipe conduziu um ensaio de reconversão (ou disseminação). Essa etapa baseou-se na transferência dos esferoides maduros formados no modelo 3D de volta para a superfície plana das garrafas de cultivo 2D. A partir de registros fotográficos, utilizou-se o software *ImageJ* para realizar análises morfométricas quantitativas, permitindo a aferição dos diâmetros de compactação estrutural dos esferoides, bem como a área total e o raio de disseminação alcançados durante a migração celular. Atualmente, o projeto possui caráter contínuo e as amostras tridimensionais já atingiram a maturidade necessária para avaliação estrutural. No entanto, as etapas finais precisaram ser temporariamente adiadas por questões operacionais: a análise histológica, voltada para a identificação de zonas de necrose central, aguarda a disponibilidade de um técnico especializado para a realização de cortes no criostato; já a avaliação molecular, que envolve a extração de RNA e a quantificação por RT-qPCR dos genes *COL1A1* e *CDH1*, esbarrou na indisponibilidade temporária do equipamento. O estudo prosseguirá futuramente com a execução dessas análises para aprofundar a compreensão da biologia metastática do glioblastoma.

RESULTADOS

Durante o cultivo no ambiente 2D, a linhagem de glioblastoma LN-18 demonstrou a sua morfologia epitelial característica, apresentando excelente adesão à superfície da garrafa e total ausência de sinais de contaminação microbiana. Ao serem introduzidas no sistema 3D estruturado a partir da técnica de sobreposição em moldes de silicone, as células aglomeraram-se de maneira bem-sucedida, o que propiciou a formação de esferoides bem estruturados, compactos e morfologicamente organizados. A análise morfométrica evidenciou que essas microestruturas alcançaram um platô de maturação e estabilidade, mantendo diâmetros consistentes ao longo do período de observação, conforme os dados detalhados no Quadro 1.

Quadro 1

Diâmetro de compactação dos esferoides da linhagem celular LN-18 no modelo 3D

Microestrutura	Diâmetro (µm)
Esferoide 1	283,03
Esferoide 2	302,08
Esferoide 3	315,14
Esferoide 4	342,30

Nota. Medições aferidas por meio do software *ImageJ* a partir da captura fotográfica das microestruturas tridimensionais, o que evidenciou a manutenção da coesão e compactação celular.

Fonte: Dados da pesquisa (2026).

No que se relaciona ao ensaio de disseminação, que busca avaliar a plasticidade biológica e o grau de agressividade celular, a linhagem LN-18 revelou um elevado e notório potencial invasivo (típico de tumores gliais) ao ser realocada no ambiente bidimensional. A evolução da migração celular



pode ser observada no Quadro 2, que ilustra o avanço progressivo e massivo do raio de disseminação até alcançar extensões celulares acentuadas no substrato plano.

Quadro 2

Raio de disseminação celular da linhagem LN-18 ao longo do ensaio de reversão experimental

Tempo de Cultivo	Raio de Disseminação (μm)	Observação estrutural
1º dia aferido (Dia 3)	1060,25	Início ativo do deslocamento radiado a partir do núcleo denso
2º dia aferido (Dia 5)	1084,34	Progressão migratória contínua e retomada da morfologia aderente
3º dia aferido (Dia 7)	1387,99	Expansão radial acelerada e disseminação celular acentuada

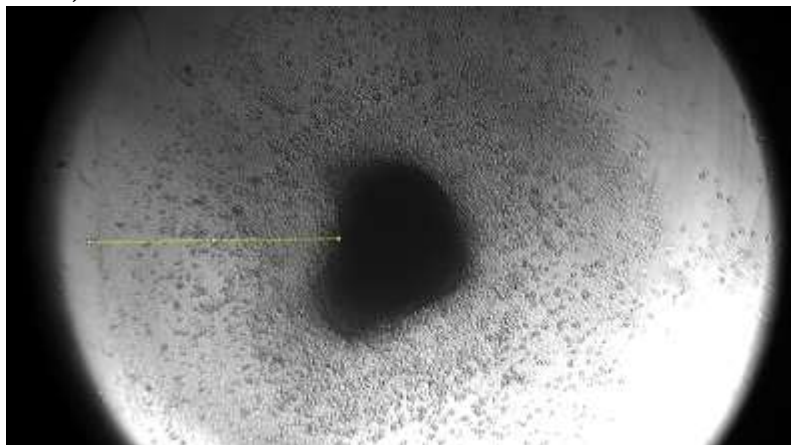
Nota. Medições que comprovam o caráter intrinsecamente agressivo e infiltrativo do glioblastoma após o estímulo tridimensional.

Fonte: Dados da pesquisa (2026).

Ademais, a análise microscópica das capturas do ensaio de reversão (Figura 1) confirmou o mimetismo do comportamento tumoral agressivo in vivo. As imagens revelam o núcleo esferoidal denso atuando como um centro emissor, circundado por uma vasta área de células migratórias se espalhando ativamente pelo plástico, o que evidencia o desenvolvimento natural do processo infiltrativo característico da progressão do glioblastoma.

Figura 1

Representação da arquitetura migratória de um esferoide de glioblastoma (LN-18) em ensaio de disseminação após 3 dias,



Nota. A imagem evidencia a formação de um denso núcleo celular central contrastando com a massiva coroa externa em migração, cujo raio de disseminação alcança 1060,25 μm no terceiro dia de ensaio. Esse espalhamento radial reflete o alto potencial invasivo simulado.

Fonte: Dados da pesquisa (2026).

CONCLUSÃO

Dessa forma, conclui-se que o sistema de micropoços moldados em silicone atua como uma plataforma *in vitro* bastante eficaz para a geração de microtumores de glioblastoma da linhagem LN-18. A avaliação morfométrica quantitativa não apenas validou a compactação estrutural alcançada



pelas células no cultivo tridimensional, como também evidenciou o enorme potencial de migração e invasão celular observado quando as estruturas são colocadas novamente no modelo bidimensional. Em conjunto, todos esses achados práticos demonstram que o modelo 3D reflete, de maneira eficaz, a morfologia e o perfil altamente infiltrativo dos tumores gliais. Para assegurar a continuidade da pesquisa, as atividades futuras consistirão na obtenção e análise dos cortes histológicos, visando identificar a provável formação de zonas de necrose central, e na execução dos ensaios de biologia molecular via RT-qPCR. A quantificação da expressão dos genes *COL1A1* e *CDH1* nestas próximas etapas será fundamental para a compreensão molecular aprofundada dos mecanismos de progressão tumoral e metástase.

REFERÊNCIAS

- Braun, F. K., et al. (2023). Scaffold-based (Matrigel™) 3D culture technique of glioblastoma recovers a patient-like immunosuppressive phenotype. *Cells*, 12(14), 1856. <https://doi.org/10.3390/cells12141856>
- Du, Y., et al. (2020). Development of a miniaturized 3D organoid culture platform for ultra-high-throughput screening. *Journal of Molecular Cell Biology*, 12(8), 630–643. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjaa036>
- Lee, S.-Y., et al. (2023). In vitro three-dimensional (3D) cell culture tools for spheroid and organoid models. *SLAS Discovery*, 28(4), 119–137. <https://doi.org/10.1016/j.slasd.2023.03.006>
- Minniti, G., et al. (2021). Current status and recent advances in reirradiation of glioblastoma. *Radiation Oncology*, 16, 36. <https://doi.org/10.1186/s13014-021-01767-9>
- Sung, H., et al. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Financiamento: Universidade Católica de Brasília.