



Topologia da cultura celular (2D vs 3D) como modulador de pluripotência e sinalização purinérgica em glioblastomas

Matheus Ramos de Oliveira Queiroz

Aysha Fernanda S. M. dos Santos

Claudiana Lameu

Instituto de Química / USP

mathqueiroz@usp.br

Objetivos

O glioblastoma é o tipo mais agressivo de tumor cerebral, caracterizado por alta heterogeneidade celular, capacidade invasiva e resistência a terapias convencionais. Estudos recentes sugerem que a topologia do cultivo celular influencia diretamente a manutenção de características de células-tronco tumorais e a comunicação celular via receptores purinérgicos. O presente estudo tem como objetivo avaliar a influência de diferentes topologias de cultura — 2D (monocamada aderente) e 3D (esferóides e tumoresferas) — sobre a expressão de marcadores de pluripotência (CD133, SOX2) e de receptores purinérgicos (P2X7, P2Y12) em linhagens de glioblastoma, buscando identificar o modelo mais representativo do tumor *in vitro* e, consequentemente, mais adequado para estudos pré-clínicos.

Métodos e Procedimentos

As linhagens de glioblastoma U87-MG e U251 serão cultivadas em condições tradicionais de monocamada (2D) ou como esferóides e tumoresferas (3D), utilizando placas de baixa aderência e suplementação com fatores de crescimento específicos para induzir agregação celular. O fenótipo de células-tronco tumorais

será caracterizado por citometria de fluxo, utilizando os marcadores de superfície CD133 e o fator de transcrição nuclear SOX2. Em paralelo, a expressão gênica dos receptores purinérgicos P2X7 e P2Y12 será quantificada por RT-qPCR, comparando níveis de transcrição entre os diferentes modelos de cultivo. Análises estatísticas serão realizadas utilizando testes apropriados para múltiplas comparações, garantindo rigor na interpretação dos dados.

Resultados

Espera-se que os modelos tridimensionais, em especial as tumoresferas, apresentem uma porcentagem significativamente maior de células CD133⁺/SOX2⁺ quando comparados ao cultivo 2D, indicando enriquecimento de características de células-tronco tumorais. Adicionalmente, a hipótese de estudo prevê que a expressão dos receptores purinérgicos P2X7 e P2Y12 esteja aumentada em relação ao cultivo bidimensional, o que sugere uma maior capacidade de resposta a sinais extracelulares e maior semelhança destes modelos com o microambiente tumoral *in vivo*. Esses resultados podem demonstrar que os modelos 3D capturam não apenas o fenótipo de pluripotência, mas também a plasticidade funcional do glioblastoma associado à sinalização purinérgica, modelando melhor a

complexidade biológica e a comunicação celular do tumor *in vitro*.

Conclusões

A validação desses modelos 3D como modelos mais fidedignos ao tumor cerebral contribuirá para o desenvolvimento de plataformas pré-clínicas mais robustas — que integrem a heterogeneidade celular e a sinalização purinérgica como determinantes da progressão tumoral — e eficientes para a triagem de novos fármacos e investigação de mecanismos de resistência terapêutica, oferecendo uma abordagem mais translacional para o estudo do glioblastoma.

Agradecimentos

Laboratório de Mecanismos Moleculares da Metástase (LEM³), Laboratório de Neurociência, Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Referências

Paolillo, Mayra, Sergio Comincini, and Sergio Schinelli. "In vitro glioblastoma models: A journey into the third dimension." *Cancers* 13.10 (2021): 2449.

Soubéran, Aurélie, and Aurélie Tchoghandjian. "Practical review on preclinical human 3D glioblastoma models: advances and challenges for clinical translation." *Cancers* 12.9 (2020): 2347.

Jo, Hyunji, et al. "Recapitulating glioma stem cell niches using 3D spheroid models for glioblastoma research." *Biosensors* 14.11 (2024): 539.

Arutyunyan, I. V., et al. "Gene expression profile of 3D spheroids in comparison with 2D cell cultures and tissue strains of diffuse high-grade gliomas." *Bulletin of experimental biology and medicine* 175.4 (2023): 576-584.

Park, Junseong, et al. "Comparison of glioblastoma cell culture platforms based on transcriptional similarity with paired tissue." *Pharmaceuticals* 17.4 (2024): 529.

Wanigasekara, Janith, et al. "Three-Dimensional (3D) in vitro cell culture protocols to enhance glioblastoma research." *PLoS One* 18.2 (2023): e0276248.

McLarnon, James G. "Roles of purinergic P2X7 receptor in glioma and microglia in brain tumors." *Cancer Letters* 402 (2017): 93-99.

Morrone, Fernanda Bueno, et al. "P2Y12 purinergic receptor and brain tumors: implications on glioma microenvironment." *Molecules* 26.20 (2021): 6146.