

EFEITOS CITOTÓXICOS E FOTOTÓXICOS DA ROSA BENGALA DECIL ÉSTER (RBDEC), EM CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA HUMANO-T98G.

Adrielle Watanabe Sanchez (PIBIC/CNPq/FA/UEM)¹, Amanda Gratão Silvestrin Ayala², Maria Ida Bonini Ravanelli Speziali (Orientadora)². E-mail: mibrspeziali@uem.br.

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR

²Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: **Ciências Biológicas/ Fisiologia Geral**

Palavras-chave: Nanotecnologia; Fotossensibilizadores; Terapia Oncológica Experimental.

RESUMO

O glioblastoma multiforme (GBM) é o tumor cerebral primário de grau 4 mais agressivo em adultos, caracterizado por sua natureza infiltrativa, alta taxa de recorrência e resistência aos tratamentos convencionais, como cirurgia, radioterapia e quimioterapia. A capacidade do tumor de invadir o tecido cerebral adjacente torna a ressecção cirúrgica completa extremamente desafiadora, contribuindo para a frequência elevada de recidivas. Nesse cenário, a terapia fotodinâmica (TFD) tem sido proposta como uma estratégia adjuvante mais seletiva, que poderia ser aplicada *in situ* durante a cirurgia, reduzindo a probabilidade de permanência de células neoplásicas residuais e minimizando danos aos tecidos cerebrais saudáveis próximos ao tumor. Considerando esse contexto, o presente estudo investigou os efeitos antitumorais citotóxicos e fototóxicos do fotossensibilizador xantênico Rosa Bengala decil éster (RBDEC), encapsulado em um sistema nanocarreador lipossomal híbrido composto por 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina (DPPC) e copolímero F127. A metodologia incluiu o cultivo da linhagem celular T98G e ensaios de viabilidade celular por MTT, realizados com e sem fotoativação. Os resultados demonstraram que o sistema lipossomal híbrido DPPC/F127/RBDEC promoveu redução de até 90% na viabilidade das células de glioblastoma multiforme humano T98G, em um perfil dependente da dose, após fotoativação, enquanto não apresentou citotoxicidade significativa na ausência de luz. Esses achados reforçam o potencial do sistema nanocarreador DPPC/F127/RBDEC como abordagem promissora para o desenvolvimento de terapias adjuvantes mais seletivas e eficazes no tratamento do GBM, justificando futuros estudos *in vitro* e *in vivo* para validação de sua aplicabilidade clínica.

INTRODUÇÃO

O glioblastoma multiforme (GBM) ocorre predominantemente nos hemisférios cerebrais, sendo 95% dos casos supratentoriais, com maior incidência nos lobos frontal e temporal. Trata-se de um tumor altamente infiltrativo no parênquima

cerebral, raramente associado a metástases extra neurais. É caracterizado por elevada heterogeneidade e plasticidade em níveis citopatológicos, transcricionais e genômicos. Sem tratamento, o GB leva ao óbito em menos de seis meses. Apesar dos avanços em neurocirurgia, quimioterapia e radioterapia, o GBM mantém-se como uma das neoplasias mais resistentes às terapias convencionais, com alto índice de recorrências agressivas, resultando em sobrevida mediana inferior a 18 meses e taxa de sobrevida em cinco anos inferior a 6%. Entre os fatores críticos para a recorrência destaca-se a presença das células-tronco de glioma (GSCs), uma subpopulação com instabilidade genômica, autorrenovação e potencial iniciador tumoral. Essas células apresentam resistência à apoptose, modulam o microambiente tumoral, participam da ativação da angiogênese e promovem imunossupressão. A falha das terapias atuais em eliminar as GSCs é considerada determinante para a recorrência inevitável da doença (Obrador *et al*, 2024). A terapia fotodinâmica (TFD) tem sido proposta como tratamento adjuvante seletivo, aplicado *in situ* durante a remoção cirúrgica de células neoplásicas residuais em tecidos marginais, configurando-se como alternativa promissora contra o glioblastoma multiforme (GBM). Trata-se de uma abordagem minimamente invasiva, seletiva para células tumorais e não tóxica para tecidos saudáveis. A TFD requer a presença simultânea de um fotossensibilizador, luz visível e oxigênio molecular. Após a ativação luminosa, o fotossensibilizador transfere energia ao oxigênio, gerando espécies reativas, em especial o oxigênio singlete, responsáveis pela morte celular por necrose ou apoptose (Cardinali *et al*, 2024). Em vista disso, neste estudo utilizamos um sistema de liberação de fármacos baseado em lipossomas híbridos, composto pelo fosfolípido 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina (DPPC) e copolímero F127 em baixa concentração. Esse sistema foi utilizado para incorporar a Rosa Bengala decil éster (RBDEC), um derivado mais hidrofóbico do corante xantênico Rosa Bengala, com o objetivo de avaliar seus efeitos citotóxicos e fototóxicos em linhagem celular de glioblastoma multiforme humano (T98G).

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultivo celular: a linhagem T98G de glioblastoma multiforme humano (ATCC, EUA) foi cultivada em DMEM alto teor de glicose (Gibco, EUA), suplementado com FBS (10%; Gibco, EUA) e penicilina-estrepotomicina (1%; Sigma, EUA), em estufa a 37 °C e 5% de CO₂. Os experimentos foram realizados quando atingida uma confluência de aproximadamente 80%.

Preparo dos lipossomas híbridos RBDEC-DPPC-F127: os lipossomas híbridos foram obtidos pelo método do filme fino (Huang, 2014). DPPC ($1,5 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹; Avanti Research, EUA) e F127 (0,20%; Sigma-Aldrich, EUA) foram dissolvidos em clorofórmio/metanol (4:1, v/v) na proporção 100:1 (Kostarelos, Tadros, Luckham, 1999). A solução foi submetida à evaporação rotativa a 50 °C, seguida de armazenamento em dessecador por 24 h. O filme resultante foi hidratado com solução de DPBS (pH 7,4) aquecida (40–45 °C) e sonicada por 30 min, formando vesículas híbridas (~60 nm). A RBDEC foi incorporada passivamente durante a fase de hidratação, com adaptações do método descrito por da Silva (2024). Vesículas brancas (sem RBDEC) foram utilizadas como controle.

Ensaio de Viabilidade Celular (MTT): células T98G ($1,2 \times 10^4$ /poço) foram cultivadas por 24 h, tratadas com lipossomas (brancos ou contendo RBDEC) e incubadas por mais 20 h em estufa, no escuro. Em seguida, foram submetidas à fotoativação com LED amarelo-verde ($7,34 \text{ J/cm}^2$). Após a iluminação, adicionou-se MTT (5 mg/mL; Sigma-Aldrich, USA), seguido de incubação por 2 h a 37°C . O formazan formado foi solubilizado em DMSO, e a absorbância registrada a 540 nm (FlexStation 3, Molecular Devices, EUA). A viabilidade celular foi expressa em relação ao controle não tratado. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Lipossomas híbridos de DPPC e copolímeros tem sido utilizados com sucesso na entrega de fotossensibilizadores aplicados na TFD *in vitro*, tanto em células tumorais (Cardinali et al, 2024) quanto em microrganismos (da Silva et al, 2024).

A Figura 1A apresenta o efeito dos tratamentos (20 horas) em diferentes concentrações do sistema lipossomal DPPC/F127/RBDEC na viabilidade de células T98G, imediatamente após a fotoativação com LED amarelo-verde (20 min; $7,34 \text{ J/cm}^2$). Observa-se que o sistema lipossomal híbrido DPPC/F127 promoveu a entrega eficiente da RBDEC, uma vez que a fotoestimulação foi capaz de promover diminuições significativas da viabilidade celular em todas as concentrações avaliadas (0,31 a $5,00 \mu\text{M}$), em comparação ao controle não tratado. Destaca-se que, a partir da concentração de $2,5 \mu\text{M}$, a diminuição da viabilidade celular atingiu valores de 85 a 90%, enquanto os lipossomas híbridos brancos não apresentaram fototoxicidade.

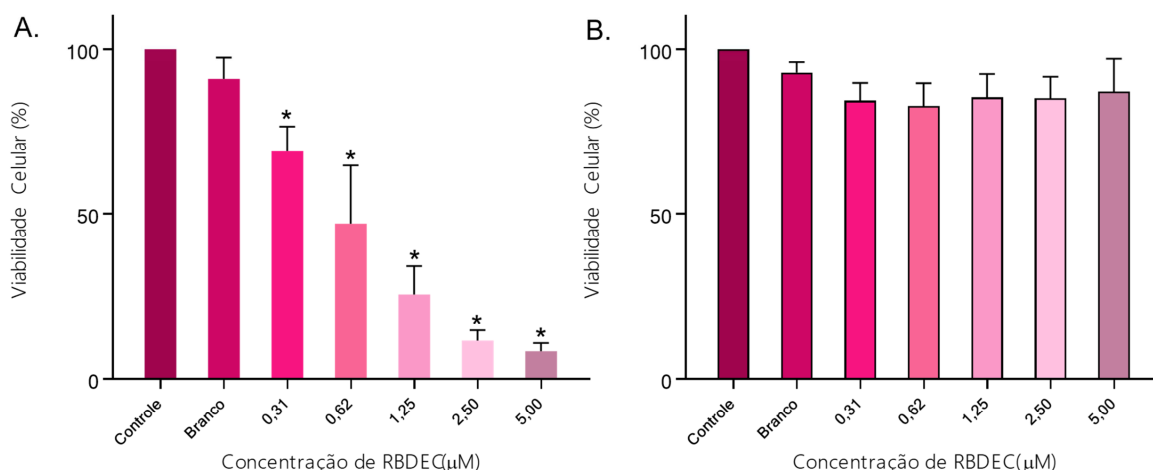


Figura 1 – (A) Fototoxicidade do sistema lipossomal híbrido DPPC/F127/RBDEC em células de glioblastoma multiforme humano (T98G). Percentual de viabilidade celular (MTT) imediatamente após fotoativação (LED amarelo-verde, 20 min; $7,34 \text{ J/cm}^2$). (B) Citotoxicidade do tratamento com DPPC/F127/RBDEC em células T98G mantidas no escuro. Os dados estão apresentados como a média do percentual de viabilidade celular, MTT. RBDEC, rosa bengala decil éster. * $P < 0.05$ em relação ao controle não tratado. ANOVA de um fator, pós-teste de Bonferroni, $n=6$. A média da viabilidade obtida para o grupo controle foi adotada como 100%.

Na Figura 1B estão apresentados os dados de viabilidade obtidos de células T98G tratadas com diferentes concentrações da formulação lipossomal híbrida DPPC/F127/RBDEC mantidas no escuro. Podemos observar que o tratamento por 20 horas não alterou de modo significativo a viabilidade, em relação ao controle não tratado, um indicativo de que o sistema fotossensibilizador avaliado não apresenta citotoxicidade na ausência de fotoestimulação. Corroborando os resultados apresentados na Figura 1, células tratadas com lipossomas brancos também não apresentaram reduções de viabilidade em relação ao controle não tratado.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que os lipossomas híbridos DPPC/F127 são sistemas eficientes para a entrega de RBDEC, promovendo significativa fototoxicidade em células T98G após ativação com LED amarelo-verde, enquanto permanecem biocompatíveis na ausência de luz. Esses achados reforçam o potencial do sistema lipossomal híbrido como veículo promissor para aplicações em terapia fotodinâmica in vitro, garantindo seletividade e segurança do fotossensibilizador, podendo contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas adjuvantes direcionadas a tumores do sistema nervoso central.

AGRADECIMENTOS

CAPES; CNPq (Universal, 408561/2023-8). A. W. S. foi bolsista (PIBIC-FA).

REFERÊNCIAS

CARDINALI, C. A. E. F. *et al.* Effects of Redox Status on Immediate Hypericin-Mediated Photodynamic Therapy in Human Glioblastoma T98G Cell Line. *ACS omega*, v. 10, n. 1, p. 1100-1109, 2024. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.4c08553>. Acesso em: 26 agosto 2025.

DA SILVA, A. C. P. *et al.* Liposomal rose bengal and its butyl ester derivative formulations for antimicrobial photodynamic therapy. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 100, p. 106085, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.106085>. Acesso em: 27 agosto 2025.

HUANG, D *et al.* Nanodrug delivery systems modulate tumor vessels to increase the enhanced permeability and retention effect. *Journal of personalized medicine*, v. 11, n. 2, p. 124, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jpm11020124>. Acesso em: 26 agosto 2025.

KOSTARELOS, K; TADROS, Th F.; LUCKHAM, P. F. Physical conjugation of (tri-) block copolymers to liposomes toward the construction of sterically stabilized vesicle systems. *Langmuir*, v. 15, n. 2, p. 369-376, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/la971052d>. Acesso em: 28 agosto 2025.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

OBRADOR, Elena et al. Glioblastoma therapy: past, present and future. International Journal of Molecular Sciences, v. 25, n. 5, p. 2529, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms25052529>. Acesso em: 28 agosto 2025.