

MODELOS EXPERIMENTAIS PRÉ-CLÍNICOS PARA O ESTUDO DO CÂNCER DE PELE

Data de aceite: 01/11/2024

Natália Guedes Jorge

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências da
Saúde
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7462137489523746>

Alécio da Silva Soutilha

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências da
Saúde
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9379232422575372>

Debora da Silva Baldivia

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2035016419817481>

Paola dos Santos da Rocha

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7047040108175200>

Daniel Ferreira Leite

Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9519649378304981>

Alex Santos Oliveira

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/9806942104800218>

Maria Victória Benites Rodrigues

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/7677639081795021>

Helder Freitas dos Santos

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/3823508641785286>

Wellington Henrique Botelho

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/6679495988027730>

Jaqueline Ferreira Campos

Universidade Federal da Grande
Dourados - Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais
Dourados – Mato Grosso do Sul
<http://lattes.cnpq.br/2239749313954245>

RESUMO: O câncer de pele é um desafio crescente para a saúde pública, sendo necessário o uso de modelos experimentais que permitam compreender cada vez melhor a doença, bem como avaliar novos produtos para sua prevenção e tratamento. Entre os modelos pré-clínicos mais utilizados estão os modelos *in vitro*, como a cultura de células, que possibilitam uma diversidade de estudos, e os organoides, que surgem para ampliar a complexidade do modelo *in vitro*. Os modelos *in vivo* abrangem uma variedade de organismos, incluindo o nematoide *Caenorhabditis elegans*, a mosca-da-fruta (*Drosophila melanogaster*), o zebrafish (*Danio rerio*) e camundongos (*Mus musculus*). Esses modelos proporcionam uma visão mais abrangente sobre a progressão tumoral e as respostas terapêuticas. Cada modelo apresenta especificidades, conferindo vantagens e limitações que variam desde a simplicidade do modelo *in vitro* até a complexidade dos animais, que simulam com maior precisão o ambiente tumoral. Nesse contexto, a seleção dos modelos em um estudo é essencial para o avanço de conhecimentos específicos na área do câncer de pele e o desenvolvimento de estratégias eficazes contra essa doença.

PALAVRAS-CHAVE: Melanoma, não melanoma, modelos *in vitro* e modelos animais

PRECLINICAL EXPERIMENTAL MODELS FOR SKIN CANCER STUDIES

ABSTRACT: Skin cancer is a growing challenge for public health, requiring the use of experimental models that allow for a better understanding of the disease, as well as the evaluation of new products for its prevention and treatment. Among the most commonly used preclinical models are *in vitro* models, such as cell cultures, which enable a variety of studies, and organoids, which emerge to increase the complexity of the *in vitro* model. *In vivo* models encompass a variety of organisms, including the nematode *Caenorhabditis elegans*, the fruit fly (*Drosophila melanogaster*), zebrafish (*Danio rerio*), and mice (*Mus musculus*). These models provide a broader view of tumor progression and therapeutic responses. Each model has specific characteristics, offering advantages and limitations that range from the simplicity of *in vitro* models to the complexity of animals, which more accurately simulates the tumor environment. In this context, the selection of models in a study is essential for advancing specific knowledge in the area of skin cancer and developing effective strategies against this disease.

KEYWORDS: Melanoma, non-melanoma, *in vitro* models and animal models

1. INTRODUÇÃO

O câncer de pele é uma das doenças mais relevantes para a saúde pública mundial devido à sua alta incidência, representando um desafio significativo para pacientes, profissionais de saúde e pesquisadores (Ahmed *et al.*, 2020). Entre os diferentes tipos de câncer, o câncer de pele se destaca tanto por sua alta incidência quanto pelas perspectivas de crescimento nos próximos anos. Essa condição, que afeta milhões de pessoas a cada ano, apresenta diversas formas e manifestações, sendo os principais tipos de câncer de pele o carcinoma basocelular, o carcinoma espinocelular e o melanoma.

O carcinoma basocelular e o carcinoma espinocelular são os tipos mais comuns de câncer de pele, sendo o basocelular o mais frequente e menos agressivo, originando-se das células basais da epiderme. Geralmente apresenta baixo potencial de metastatização e um crescimento mais lento. O carcinoma espinocelular, por sua vez, derivado das células escamosas, que embora seja mais agressivo que o basocelular, ainda possui uma taxa de disseminação inferior ao melanoma.

No entanto, devido à maior agressividade do melanoma, que se origina dos melanócitos, a maioria dos estudos se concentra nesse tipo de câncer. O melanoma tem apresentado um índice crescente de incidência, influenciado por fatores como a alta exposição aos raios ultravioleta (UV) e predisposição genética como mutações no gene BRAF. Além de sua prevalência, o melanoma é notório por sua capacidade de propagação rápida, afetando gravemente a saúde e a qualidade de vida dos pacientes portadores da doença.

O impacto do câncer de pele, em especial do melanoma, vai além das condições físicas, sendo um desafio também nos aspectos psicológicos e emocionais que afetam os pacientes. Diante desse cenário, é de suma importância pesquisas sobre o câncer de pele, buscando-se por estratégias eficazes de prevenção, diagnóstico precoce, redução de efeitos colaterais e tratamentos mais eficazes. Para isso, diversos modelos experimentais têm sido desenvolvidos e aprimorados, cada um oferecendo uma perspectiva diferente para investigar os mecanismos relacionados à doença e avaliar abordagens terapêuticas mais eficazes e mais seletivas, comparadas aos tratamentos convencionais.

Todos os sistemas experimentais, desde cultura de células até modelos mais complexos como os camundongos, têm sido fundamentais para expandir o conhecimento sobre o câncer de pele e para o desenvolvimento de novas terapias. Neste capítulo será abordada uma visão abrangente desses modelos experimentais, destacando suas aplicações, vantagens e limitações na investigação do câncer de pele.

2. MODELOS EXPERIMENTAIS

2.1. MODELOS *in vitro*

2.1.1 Cultura de células

2.1.1.1 Visão geral

A cultura de células animais é uma ferramenta importante na pesquisa do câncer de pele. Ela apresenta possibilidades versáteis para investigar diferentes mecanismos relacionados à doença, avaliar terapias e desenvolver estratégias de tratamento. O uso da cultura de células na pesquisa sobre o câncer de pele só se tornou viável após o desenvolvimento de métodos eficazes para isolar e manter células em condições de laboratório.

O pioneirismo nesse campo é frequentemente atribuído a Ross Harrison, que em 1907 cultivou pela primeira vez, células nervosas de sapos em um meio de cultura *in vitro*. No entanto, foi somente na década de 1950 que a técnica começou a ser amplamente utilizada, com o desenvolvimento de meios de cultura adequados e técnicas de manipulação celular (Ambrose, *et al.* 2019).

O método de cultivo celular tem sido utilizado na investigação do câncer de pele uma vez que as culturas de células consistem em células derivadas de tumores, as quais mantêm as suas características do tecido original, permitindo o estudo *in vitro* da biologia e fisiopatologia do câncer. Essas culturas são originadas a partir de biópsias de pacientes, denominadas culturas primárias, ou de linhagens celulares já condicionais, derivadas de células isoladas diretamente de tecidos de organismos vivos e posteriormente cultivadas em laboratório. Exemplos de linhagens previstas incluem o melanoma murino B16F10-Nex2 (Figura 1A) e os melanomas humanos SK-MEL-19, SK-MEL-28 e SK-MEL-103 (Figura 1B-D), sendo essas, culturas secundárias ou condicionais.

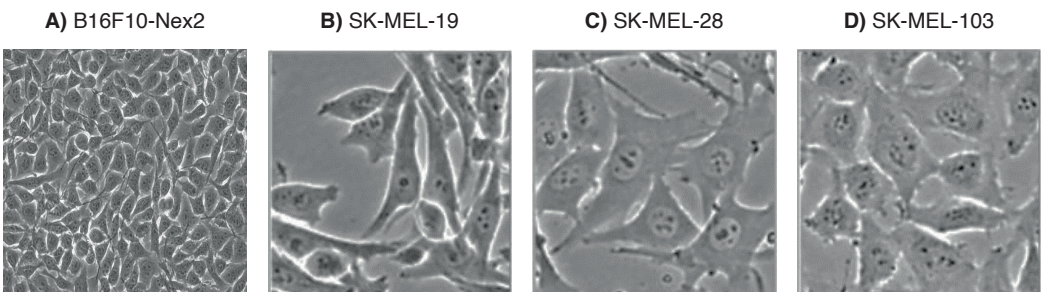


Figura 1. Linhagens de melanoma em cultivo: (A) Linhagem de melanoma murino (B16F10-Nex2); (B) Linhagens de melanoma humano (SK-MEL-19); (C) SK-MEL-28; (D) SK-MEL-103. Fonte: ATCC, 2024.

O cultivo de células de câncer de pele pode ser dividido em dois tipos principais: bidimensional (2D) e tridimensional (3D). No cultivo 2D, as células são cultivadas em superfícies planas, como uma placa de cultura, onde formam uma monocamada. Esse

método é útil para estudar o crescimento celular, proliferação e algumas interações celulares, mas não reflete a complexidade do ambiente tridimensional do corpo humano. Já no cultivo 3D, as células são mantidas em ambientes tridimensionais, como hidrogéis ou estruturas similares, permitindo que as células interajam mais naturalmente, mimetizando melhor o ambiente *in vivo*.

2.1.1.2 Aplicações

Células de câncer de pele, quando cultivadas em condições estabelecidas, podem não apenas proliferar em laboratório, mas também formar tumores ao serem introduzidas em organismos hospedeiros de outra espécie, em um procedimento denominado xenotransplante. Esse método permite a criação de modelos tumorais em animais, geralmente imunossuprimidos, possibilitando a avaliação da eficácia de drogas e terapias direcionadas. Assim, as culturas celulares desempenham um papel essencial em diversas aplicações, incluindo:

- **Estudo de citotoxicidade:** A avaliação da resposta a drogas é comumente realizada por meio do ensaio de 1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenylformazan (MTT). Esse método colorimétrico permite mensurar a viabilidade celular ao expor as células a diferentes tratamentos, com base na capacidade das células vivas de converter o sal de MTT em um produto insolúvel, de cor roxa, os cristais de formazan. A intensidade da cor formada reflete a atividade metabólica celular, permitindo inferir a eficácia dos tratamentos investigados (Baldivia *et al.* 2018).
- **Investigação do perfil de morte celular:** A investigação dos mecanismos de morte celular, como apoptose (morte celular programada) e necrose, pode ser feita com a técnica de citometria de fluxo. Esse método utiliza marcadores específicos para identificar células que estão passando por diferentes tipos de morte celular. A citometria de fluxo ajuda a diferenciar e quantificar com precisão as células vivas, apoptóticas e necróticas, facilitando a compreensão de como o tratamento está afetando as células (Castro, *et al.* 2023).
- **Estudo da migração celular:** O ensaio de migração celular (*scratch assay*) é uma técnica amplamente utilizada para avaliar a progressão tumoral e o potencial metastático. Nesse método, uma ferida artificial é criada em uma monocamada de células tumorais cultivadas em placas de cultura, simulando uma lesão tecidual. A migração das células para o fechamento da ferida é monitorada ao longo do tempo, permitindo a avaliação da capacidade de migração e invasão das células tumorais (Castro, *et al.* 2023).

2.1.1.3 Vantagens e limitações

O modelo de culturas de células proporciona vantagens na investigação de tratamentos para câncer de pele, incluindo controle específico do ambiente experimental, facilidade de manipulação e possibilidade de ensaios de triagem de drogas em larga escala de forma rápida e econômica. No entanto, apesar dessas vantagens, as culturas de células

também apresentam limitações. O ambiente artificial das culturas celulares não consegue reproduzir integralmente a complexidade do microambiente tumoral *in vivo*. Além disso, características importantes do câncer, como sua heterogeneidade celular e as interações com o sistema imunológico, não são completamente modeladas em culturas celulares bidimensionais (2D), o que limita a compreensão detalhada do microambiente tumoral. Isso ressalta a importância de complementar os estudos em cultura celular 2D com outras abordagens experimentais.

2.1.2 Cultura transwell

2.1.2.1 Visão geral

A cultura de células *transwell* é uma técnica que utiliza membranas permeáveis para simular as barreiras fisiológicas encontradas no tecido vivo. Seu desenvolvimento acompanhou os avanços na compreensão dos mecanismos moleculares e celulares envolvidos no câncer de pele, permitindo estudos mais detalhados e precisos (Yoo *et al.*, 2023). Ele foi desenvolvido na década de 1980 como uma solução para estudar a barreira epitelial e a interação entre diferentes tipos celulares em um ambiente tridimensional controlado, preenchendo uma lacuna entre os estudos *in vitro* bidimensionais e os modelos *in vivo*.

O modelo transwell consiste em uma membrana permeável que separa duas câmaras, permitindo o cultivo de células da epiderme na parte superior e de células dérmicas na parte inferior, mimetizando a barreira epitelial da pele (Figura 2) e replicando, *in vitro*, a estrutura e função desse tecido. Essa configuração possibilita a análise de interações entre diferentes tipos de células e moléculas presentes no microambiente tumoral, além de permitir a avaliação de fatores que influenciam a progressão do câncer, como a angiogênese e a resposta imunológica.

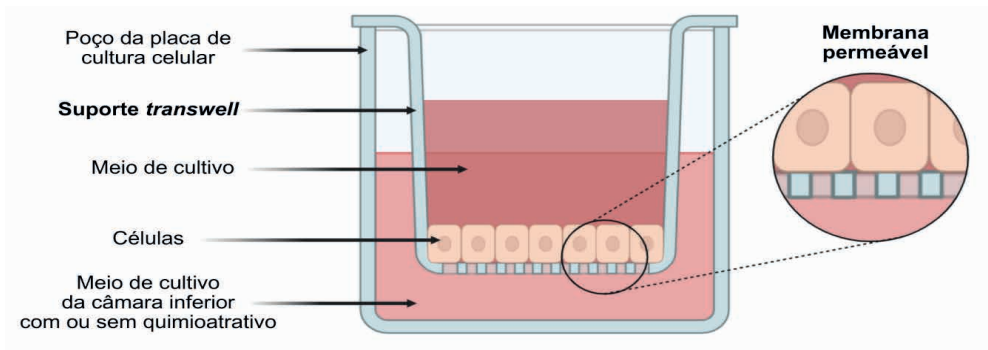


Figura 2. Modelo *Transwell*. Fonte: Autoria própria, 2024.

2.1.2.2 Aplicações

Esse modelo experimental é amplamente utilizado para investigar diversos aspectos do câncer de pele, incluindo detalhes sobre os processos de migração e invasão celular, além da resposta a agentes terapêuticos. Nesse contexto, as células são cultivadas na

câmara superior e têm a capacidade de migrar através de uma membrana permeável para a câmara inferior, o que possibilita o entendimento de dois aspectos recorrentes no câncer de pele do tipo melanoma:

- **Migração Celular:** Nesse ensaio, avalia-se a capacidade das células tumorais de se moverem ao longo de uma superfície. As células são semeadas na câmara superior e, após a adição de um estímulo químico atrativo na câmara inferior, a migração é medida pelo número de células que atravessam a membrana em um determinado período de tempo. Esse experimento é útil para avaliar o comportamento migratório de células tumorais e suas respostas a estímulos externos (Dang *et al.* 2020).
- **Invasão Celular:** Diferente do ensaio de migração, este experimento envolve a passagem das células através de uma matriz extracelular artificial, como a base de colágeno ou Matrigel®, que é aplicado sobre a membrana. A capacidade de as células invadirem essa barreira mimetiza a invasão tumoral em tecidos adjacentes no corpo. A invasão é medida pela quantidade de células que conseguem atravessar a matriz e chegar à câmara inferior, revelando o potencial invasivo do câncer (Dang *et al.* 2020).

2.1.2.3 Vantagens e limitações

A principal vantagem da cultura *transwell* é sua capacidade de simular aspectos importantes do microambiente tumoral em um sistema simplificado e controlado. Isso permite a realização de experimentos mais rápidos e acessíveis do que os estudos *in vivo*, além de oferecer a possibilidade de manipular variáveis específicas, como a composição do meio de cultura e a presença de moléculas sinalizadoras. Com isso, esse modelo se torna extremamente relevante para a identificação de novas drogas como potencial alvo terapêutico. Porém, a falta de interação com outros componentes do microambiente tumoral, como células do sistema imunológico, fibroblastos associados ao câncer, vasos sanguíneos, matriz extracelular e gradientes metabólicos, pode influenciar os resultados obtidos *in vitro*, tornando-se uma limitação da técnica.

2.1.3 Organoides

2.1.3.1 Visão geral

Os organoides surgiram como uma técnica inovadora e promissora para o estudo de uma variedade de doenças, incluindo o câncer de pele (Zhou *et al.*, 2023). O uso desse modelo teve início no início do século XXI, quando cientistas começaram a desenvolver métodos para cultivar células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs) em condições que mimetizam o ambiente tridimensional dos tecidos *in vivo* (Shi *et al.*, 2017). Os organoides derivados de iPSCs ou de células tumorais são construções tridimensionais compostas de vários tipos de células que se originam de células-tronco pluripotentes por meio de auto-organização, e são capazes de simular a arquitetura e funcionalidade de tecidos e órgãos de origem. Isso permite estudos mais detalhados das interações celulares e dos processos biológicos envolvidos no desenvolvimento e progressão do câncer de pele (Larribère *et al.*, 2019; Qu *et al.*, 2021).

2.1.3.2 Aplicações

A utilização dos organoides no estudo do câncer de pele pode incluir:

- **Modelagem da heterogeneidade tumoral:** Os organoides capturam a heterogeneidade celular observada nos tumores, permitindo o estudo de subpopulações de células tumorais e a identificação de biomarcadores prognósticos (Hicks *et al.*, 2022).
- **Teste de drogas e terapias:** Os organoides podem ser usados para avaliar a eficácia de drogas e terapias direcionadas ao câncer, fornecendo uma plataforma de triagem rápida e eficiente (Chen *et al.*, 2021). O esquema a seguir (Figura 3) representa uma das metodologias de geração e uso de organoides.

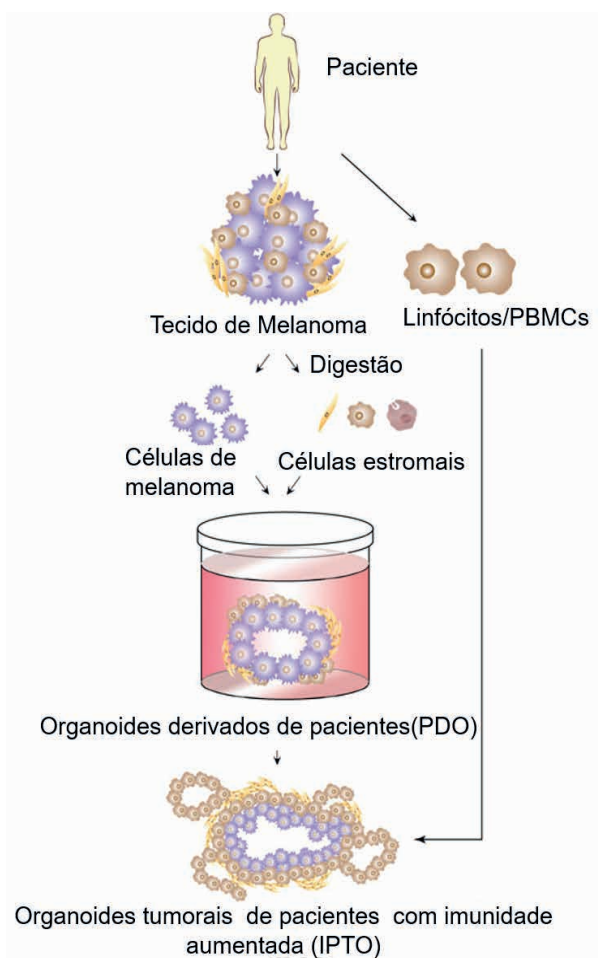


Figura 3. Representação esquemática do processo de geração de organoides tumorais derivados de pacientes (PDOs) a partir de tecidos de melanoma. Após a digestão do tecido, células de melanoma e estromais são isoladas e utilizadas para formar organoides tridimensionais. Esses modelos podem ser modificados para incluir linfócitos do próprio paciente, criando organoides tumorais com imunidade aumentada (IPTOs), utilizados na personalização e otimização de terapias contra o melanoma. Fonte: Adapado de Zhou *et al.*, 2023.

- **Estudo da interação com o microambiente tumoral:** Os organoides podem ser co-cultivados com células estromais, imunológicas e endoteliais, criando sistemas de co-cultura que reproduzem as interações complexas entre células tumorais e o microambiente tumoral de forma mais fiel às condições *in vivo*. Esses sistemas permitem investigar detalhadamente o papel das células imunológicas na progressão tumoral, o impacto da infiltração imunológica no crescimento e na metástase do tumor, a eficácia de imunoterapias e os mecanismos de resistência a medicamentos (Zhou *et al.*, 2023).

2.1.3.3 Vantagens e limitações

Os organoides são utilizados como modelo de estudo para o câncer de pele por diversas razões, como a diversidade de células encontradas nos tumores, tornando-se um modelo mais fiel da doença. Além disso, podem refletir as características específicas de cada paciente, permitindo a análise de como diferentes tratamentos afetam essas células e avaliando a eficácia de terapias personalizadas.

A complexidade experimental é uma das limitações deste modelo, já que o estabelecimento e manutenção de organoides requerem habilidades técnicas avançadas e recursos específicos. Além disso, os organoides podem não mimetizar completamente a complexidade do microambiente tumoral *in vivo*, o que limita sua capacidade de reproduzir fielmente as condições encontradas nos tumores reais.

2.2. MODELOS *in vivo*

2.2.1. *Caenorhabditis elegans*

2.2.1.1 Visão geral

Caenorhabditis elegans é um nematoide de vida livre encontrado no solo e tem sido amplamente utilizado como organismo modelo em pesquisas biológicas desde a década de 1960. *C. elegans* é um organismo multicelular simples, com cerca de 1000 células somáticas e possui alta homologia com os humanos, incluindo células da pele, neurônios e células do sistema imunológico. Além disso, *C. elegans* possui homólogos de cerca de dois terços de todos os genes de doenças humanas, tornando-o um modelo útil para o estudo dessas doenças, incluindo o câncer (Figura 4) (Zhang *et al.*, 2020). A escolha deste organismo deve-se à sua transparência corporal, tamanho, ciclo de vida curto e genoma totalmente sequenciado, características que facilitam a avaliação de processos biológicos (Antoshechkin *et al.*, 2007).



Figura 4. Marcas registradas do câncer possíveis de se estudar no modelo experimental *Caenorhabditis elegans*. Fonte: Adapado de Céron, 2023.

2.2.1.2 Aplicações

C. elegans tem sido usado em diversas finalidades, para se estudar o câncer de pele, incluindo:

- **Possível diagnóstico para o câncer:** O *Caenorhabditis elegans* vem sendo explorado como modelo inovador para o diagnóstico do câncer, especialmente para identificar biomarcadores e características genéticas ligadas ao desenvolvimento e progressão do câncer de pele. Pesquisas recentes mostram que este nematóide é capaz de revelar alterações moleculares e genéticas específicas em tumores humanos, como mutações em genes associados a vias de sinalização oncogênicas e de reparo de DNA, semelhantes às encontradas em células humanas. Por exemplo, a ativação anômala da via Ras-MAPK, frequentemente associada a melanomas, pode ser estudada em *C. elegans*, onde alterações genéticas induzidas resultam em fenótipo visível, facilitando o rastreamento dos efeitos tumorais (Hatakeyama *et al.*, 2024).
- **Modelagem de vias de sinalização celular:** O nematoide tem sido utilizado para modelar vias de sinalização molecular envolvidas no desenvolvimento de tumores de pele, como a via p53 e outras que regulam o controle celular e a morte celular programada, permitindo o estudo de como mutações nessas vias podem contribuir para a carcinogênese (Chen *et al.*, 2018).

- **Triagem de compostos terapêuticos:** *C. elegans* pode ser utilizado como um modelo eficaz para a triagem inicial de compostos anticancerígenos. Sua simplicidade genética e rapidez de reprodução possibilitam a análise de uma grande variedade de substâncias e suas interações com alvos moleculares relacionados ao câncer de pele, acelerando a descoberta de tratamentos potenciais (Kobet *et al.*, 2014).

2.2.1.3 Vantagens e limitações

A acessibilidade de obtenção de diversas cepas, incluindo o modelo de multivulva, proporciona aos pesquisadores, uma maior diversidade de modelos de câncer de pele, se tornando uma das principais vantagens relacionadas a este modelo, além da oportunidade de estudar de maneira precisa o papel de genes específicos no desenvolvimento do câncer cutâneo.

Apesar das diversas vantagens, *C. elegans* não desenvolve naturalmente o câncer, o que implica na indução de mutações ou alterações genéticas para investigar essa condição. Além disso, embora este modelo animal compartilhe muitos genes em comum com os humanos, existem diferenças significativas entre esses dois organismos, necessitando de pesquisas complementares relacionadas a outros modelos.

2.2.2. *Drosophila melanogaster* - Mosca-da-fruta

2.2.2.1 Visão geral

A *Drosophila melanogaster* é conhecida popularmente como mosca-da-fruta, sendo um dos organismos modelo mais antigos e bem treinados na biologia, amplamente utilizado em genética, desenvolvimento e estudos de sinalização celular. Embora seja um invertebrado, suas vias de sinalização molecular têm uma grande homologia com as vias humanas envolvidas no câncer.

Este modelo experimental foi introduzido no início do século XX, principalmente pelos trabalhos de Thomas Hunt Morgan, que usou a mosca-da-fruta para estudar genética e hereditariedade. Seu trabalho, que lhe rendeu o Prêmio Nobel em 1933, lançou as bases para a biologia molecular moderna. O estudo do câncer utilizando *D. melanogaster* começou mais tarde, quando os cientistas perceberam que várias vias de sinalização relacionadas ao câncer humano estavam conservadas na mosca, sendo cerca de 65% de homologia com os genes causadores de doenças em humanos (Berrak *et. al.*, 2016).

2.2.2.2 Aplicações

A partir dos anos 2000, a *D. melanogaster* começou a ser amplamente utilizada para investigar a progressão tumoral e a resistência a terapias. Entre as principais aplicações deste modelo no estudo do câncer de pele estão:

- **Modelagem genética do câncer:** A *D. melanogaster* permite a manipulação precisa de genes associados ao câncer humano, como os genes p53 e Ras. Essa abordagem tem sido usada para estudar o impacto de mutações específicas que promovem o desenvolvimento do câncer de pele e para compreender os mecanismos moleculares envolvidos na progressão tumoral (Mirzoyan *et al.*, 2019).
- **Avaliação das interações celulares em um microambiente tumoral:** A *D. melanogaster* permite a microinjeção de células tumorais humanas ou de tecidos específicos em seu abdômen, possibilitando o desenvolvimento de tumores primários em um ambiente vivo (Figura 5). Além disso, a análise de metástases pode ser realizada ao identificar micrometástases em órgãos específicos, como os ovários, o que contribui para a compreensão dos mecanismos de invasão celular e interações tumorais com a matriz extracelular. Estudos também mostram a viabilidade de transplantes seriados, que replicam a evolução tumoral e características de agressividade, fundamentais para o avanço no entendimento de metástases e resistência terapêutica (Sharpe *et al.*, 2023).
- **Triagem de novos compostos terapêuticos:** Modelos de *D. melanogaster* são usados para triagem de drogas em larga escala, possibilitando a identificação de compostos que iniciam a progressão de tumores de pele, inclusive melanomas. Além disso, a facilidade em gerar modelos de câncer com múltiplas mutações possibilita a realização de diversos testes para avaliar terapias potenciais (Chamonné, 2022).

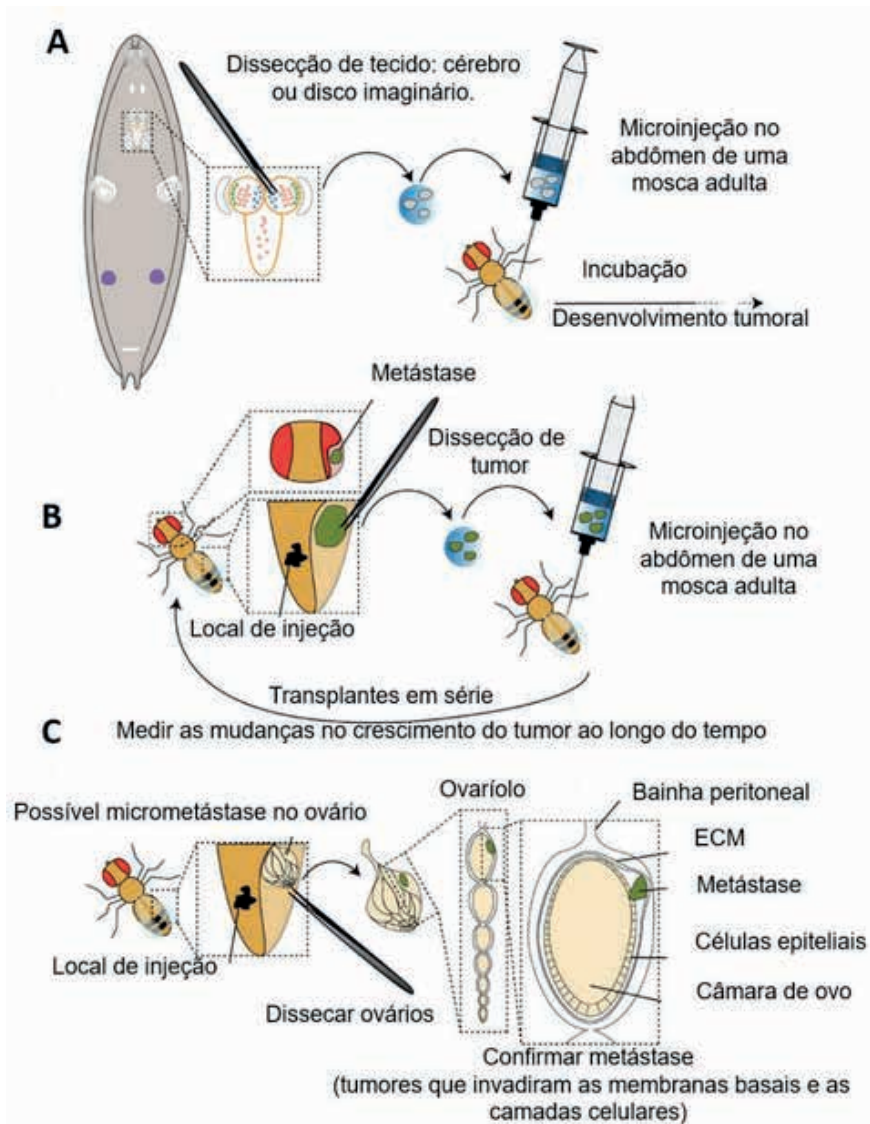


Figura 5. uso de *Drosophila melanogaster* como modelo tumoral. A) Microinjeção de células tumorais no abdômen da mosca para indução de tumores. B) Dissecção de tumores e transplantes em série para estudar progressão tumoral e metástase. C) Avaliação de micrometástases em ovários para entender a invasão celular e interação com a matriz extracelular. Fonte: Adaptado de Sharpe *et al.*, 2023.

2.2.2.3 Vantagens e limitações

D. melanogaster possui um ciclo de vida curto (aproximadamente 10 dias) e pode gerar grandes populações rapidamente. Permite também, manipulações genéticas com facilidade e precisão, tornando-se um excelente modelo para estudos funcionais de genes relacionados ao câncer.

As diferenças fisiológicas entre a *D. melanogaster* e os humanos, especialmente a ausência de uma pele análoga e de um sistema imunológico adaptativo, restringem sua

capacidade de representar com fidelidade o microambiente cutâneo e a resposta imune em tumores humanos. Essas limitações devem ser consideradas ao escolher este modelo para o estudo do câncer de pele, sendo essencial complementá-la com outros modelos experimentais.

2.2.3. *Danio rerio* – Zebrafish

2.2.3.1 Visão geral

O *Danio rerio* ou *zebrafish*, é um pequeno peixe tropical que se destacou recentemente como um dos modelos mais valiosos para o estudo de doenças humanas, incluindo o câncer. Esta ferramenta biotecnológica começou a ser utilizada no final do século XX e ganhou destaque nas últimas décadas como um modelo altamente relevante e eficaz para estudar processos biológicos e doenças humanas.

Introduzido como modelo de pesquisa na década de 1970 por George Streisinger, na Universidade de Oregon, o *zebrafish* foi escolhido por sua alta fecundidade, embriões transparentes e facilidade de manipulação genética. Inicialmente utilizado em estudos de desenvolvimento, esse organismo logo se destacou como modelo para investigar doenças humanas. Com o passar das décadas, consolidou-se como uma ferramenta essencial para triagens de medicamentos e pesquisas em oncologia, graças à sua habilidade de replicar processos biológicos relevantes para os seres humanos.

Este modelo animal compartilha uma grande semelhança genética e biológica com os humanos, cerca de 80% de similaridade com genes associados a doenças humanas, o que o torna um modelo relevante para o estudo de diversas doenças, incluindo o câncer de pele (Figura 6) (Bootorabi *et al.*, 2017).

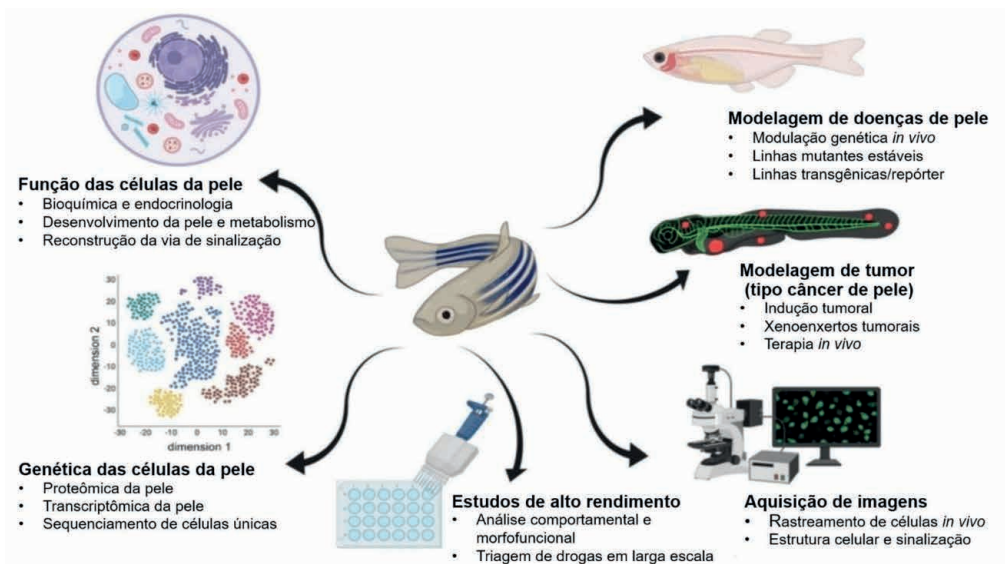


Figura 6. Aplicações do *zebrafish* em estudos de pele e câncer de pele. Fonte: Adaptado de Russo, 2022.

2.2.3.2 Aplicações

O *zebrafish* tem sido amplamente utilizado em várias aplicações relacionadas ao câncer de pele, incluindo:

- **Modelagem genética do câncer:** Este modelo pode ser geneticamente manipulado para expressar mutações associadas ao câncer de pele, como o melanoma humano, permitindo o estudo dos mecanismos subjacentes à carcinogênese (Kaufman, *et al.*, 2016).
- **Avaliação de terapias:** O uso do *zebrafish* permite testar a eficácia de drogas e terapias experimentais para o tratamento do câncer de pele, fornecendo insights sobre a resposta ao tratamento.
- **Estudo da metástase:** A capacidade de visualização direta do *zebrafish* permite o estudo da disseminação metastática e a identificação de genes e vias envolvidas nesse processo (Astell *et al.*, 2020).

2.2.3.3 Vantagens e limitações

O modelo animal *zebrafish* oferece várias vantagens experimentais, é um animal de pequeno porte que possui um ciclo de vida rápido e alta fecundidade, facilitando a geração de grandes amostras para análise. Sua transparência durante os estágios iniciais de desenvolvimento permite a visualização direta de processos biológicos celulares e moleculares, incluindo o desenvolvimento de doenças e a resposta a tratamentos. Além disso, o baixo custo de manutenção e a viabilidade de manutenção em espaços reduzidos tornam o *zebrafish* uma escolha ideal para estudos de triagem em larga escala. Esse modelo possibilita triagens genéticas robustas para identificar genes e vias relacionadas a diversas doenças, com destaque para aplicações em oncologia, neurologia e estudos de toxicidade, conforme demonstrado por Bootorabi *et al.* (2017). No entanto, o *zebrafish* não consegue mimetizar completamente a complexidade do microambiente tumoral humano.

2.2.4 *Mus musculus* – Camundongos

2.2.4.1 Visão geral

Os camundongos são os modelos animais mais amplamente utilizados em estudos pré-clínicos, devido sua alta similaridade genética e fisiológica com os humanos. Eles têm sido essenciais na pesquisa do câncer, incluindo o câncer de pele, tanto na modelagem de tumores espontâneos quanto induzidos. Os camundongos são pequenos mamíferos com cerca de 85% de similaridade genética com os humanos. Existe uma vasta gama de linhagens de camundongos geneticamente modificados, incluindo camundongos transgênicos e *knockouts* que podem mimetizar mutações humanas específicas, como o gene BRAF presente no melanoma. Além disso, os camundongos são frequentemente utilizados em estudos de xenotransplante, onde células cancerígenas são implantadas em animais.

O uso de camundongos em modelos pré-clínicos teve início no final do século XIX. Em 1909, Clarence Cook Little iniciou programas de reprodução controlada de camundongos na Universidade de Harvard, resultando na criação de linhagens isogênicas que facilitaram os estudos genéticos e experimentais. Desde então, os camundongos se transformaram no modelo padrão para esses estudos, especialmente após a década de 1970, com a utilização de camundongos transgênicos que expressam lesões humanas relevantes, como no melanoma e no carcinoma basocelular.

2.2.4.2 Aplicações

Os camundongos podem ser utilizados em uma variedade de aplicações para o estudo do câncer de pele, incluindo:

- **Xenotransplante de células tumorais:** O xenotransplante envolve a implantação de células tumorais em um modelo animal. Esse ensaio é amplamente utilizado para estudar o comportamento de células tumorais em um ambiente vivo, observando o crescimento, a progressão e a resposta às terapias como representado na Figura 7 (Federica Invrea et al., 2020).

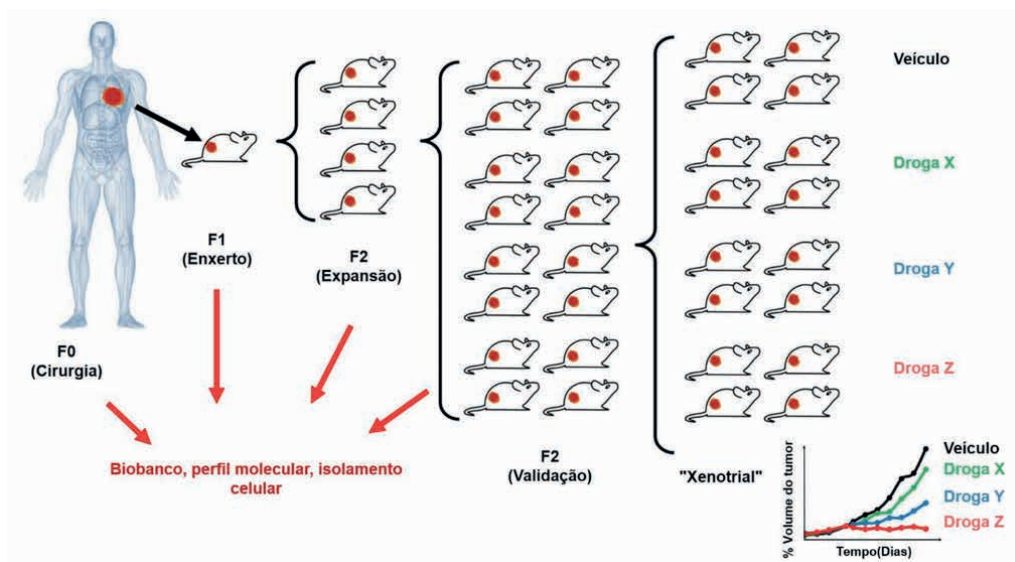


Figura 7. Tumor derivado de paciente implantado em um camundongo para avaliar a eficácia de medicamentos. Adaptado de Federica Invrea et al., 2020.

- **Ensaio de metástase pulmonar:** Esse ensaio avalia a capacidade das células tumorais de invadir outros órgãos, especialmente os pulmões, o que é comum no melanoma. Neste ensaio, células tumorais são injetadas, geralmente via caudal ou intravenosa, em camundongos, e a disseminação para os pulmões é monitorada. Após um período, os pulmões são examinados para contagem e análise das metástases. Esse ensaio é importante para estudar os mecanismos de invasão e metástase e avaliar terapias antimetastáticas (Castro, *et al.*, 2019).

- **Ensaios de terapias combinadas:** Os ensaios de terapias combinadas avaliam a eficácia de diferentes técnicas de tratamentos, como drogas direcionadas a alvos moleculares específicos, tratamentos farmacológicos convencionais, imunoterapias e radioterapias. Esses ensaios são realizados em modelos animais, como camundongos com tumores estabelecidos, para testar se o uso conjunto de várias terapias pode ter um efeito sinérgico, melhorando a resposta ao tratamento e superando a resistência. A análise inclui medidas de redução tumoral, toxicidade e aumento da sobrevida (Gingrich; Kirane, 2020).

2.2.4.3 Vantagens e limitações

Os camundongos apresentam alta relevância biológica devido à sua similaridade genética e fisiológica com os seres humanos, tornando-os um modelo essencial no estudo do câncer de pele. Além disso, há uma ampla disponibilidade de linhagens transgênicas altamente especializadas, o que facilita a modelagem de doenças específicas. Eles também são extremamente úteis para estudar a interação entre o sistema imunológico e os tumores, especialmente em estudos que visam entender a resposta imunológica ao câncer. No entanto, o uso de camundongos possui algumas limitações, como o custo elevado de manutenção e experimentação, além do tempo relativamente longo necessário para gerar dados, especialmente quando comparado a espécies menores, como *zebrafish* ou *Drosophila melanogaster*. Além disso, há considerações éticas importantes relacionadas ao uso de animais, que requerem um cuidado justificativo e em conformidade com as normas regulamentares.

CONCLUSÃO

Conclui-se que os modelos pré-clínicos desempenham um papel fundamental na investigação dos mecanismos relacionados ao desenvolvimento, progressão e tratamento do câncer. Cada modelo, como *C. elegans*, *Drosophila melanogaster*, *zebrafish* e camundongos, oferece vantagens únicas devido à sua homologia genética com os humanos, que varia de cerca de 60% em *C. elegans* a 85% em camundongos. Esses níveis de homologia permitem a reprodução de processos biológicos humanos em diferentes graus de complexidade, contribuindo para o estudo de genes relacionados ao câncer e respostas terapêuticas. A integração de dados provenientes de diferentes modelos, juntamente com estudos complementares, é essencial para garantir a precisão e a relevância dos achados, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e seguras.

REFERÊNCIAS

AHMED, B.; QADIR, M. I.; GHAFOR, S. **Malignant Melanoma: Skin Cancer-Diagnosis, Prevention, and Treatment**. Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression, v. 30, n. 4, p. 291–297, 2020.

- AMBROSE, C. T. **An amended history of tissue culture: Concerning Harrison, Burrows, Mall, and Carrel.** Journal of Medical Biography, v. 27, n. 2, p. 95–102, 2019.
- ASTELL, K. R.; SIEGER, D. **Zebrafish In Vivo Models of Cancer and Metastasis.** Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, v. 10, n. 8, p. a037077, 2020.
- BERRAK U.; CHEN, K.; BELLEN, H. J. **Drosophila tools and assays for the study of human diseases.** Disease Models & Mechanisms, v. 9, n. 3, p. 235–244, 1 mar. 2016.
- BOOTORABI, F. *et al.* **Zebrafish as a Model Organism for the Development of Drugs for Skin Cancer.** International Journal of Molecular Sciences, v. 18, n. 7, p. 1550, 2017.
- CASTRO, D. T. H., *et al.* **Ethanollic Extract of *Senna velutina* Roots: Chemical Composition, In Vitro and In Vivo Antitumor Effects, and B16F10-Nex2 Melanoma Cell Death Mechanisms.** Oxid Med Cell Longev. 2019 Jun 12;2019:5719483. doi: 10.1155/2019/5719483. PMID: 31285786; PMCID: PMC6594258.
- CASTRO, D. T. H., *et al.* **Structural Characterization and Anticancer Activity of a New Anthraquinone from *Senna velutina* (Fabaceae).** Pharmaceuticals (Basel). 2023 Jul 1;16(7):951. doi: 10.3390/ph16070951. PMID: 37513863; PMCID: PMC10385181.
- CERÓN J. ***Caenorhabditis elegans* for research on cancer hallmarks.** Disease Models & Mechanisms, v. 16, n. 6, 2023.
- CHAMONÉ MUNNIK *et al.* ***Drosophila melanogaster*: A platform for anticancer drug discovery and personalized therapies.** Frontiers in Genetics, v. 13, 2022.
- CHEN, B. *et al.* **N-(3-oxo-acyl) homoserine lactone induced germ cell apoptosis and suppressed the over-activated RAS/MAPK tumorigenesis via mitochondrial-dependent ROS in *C. elegans*.** APOPTOSIS, v. 23, n. 11-12, p. 626–640, 2018.
- CHEN, P. *et al.* **Patient-Derived Organoids Can Guide Personalized-Therapies for Patients with Advanced Breast Cancer.** Advanced Science, v. 8, n. 22, p. e2101176, 2021.
- DANG, Y. *et al.* **Gastric cancer proliferation and invasion is reduced by macrocalyxin C via activation of the miR-212-3p/Sox6 Pathway.** Cellular Signalling, v. 66, p. 109430–109430, 12 nov. 2019.
- FEDERICA INVREA *et al.* **Patient-derived xenografts (PDXs) as model systems for human cancer.** Current Opinion in Biotechnology, v. 63, p. 151–156, 18 fev. 2020.
- GINGRICH, A. A.; KIRANE, A. R. **Novel Targets in Melanoma.** Surgical Oncology Clinics of North America, v. 29, n. 3, p. 467–483, jul. 2020.
- HATAKEYAMA, H. *et al.* **A non-invasive screening method using *Caenorhabditis elegans* for early detection of multiple cancer types: A prospective clinical study.** Biochemistry and Biophysics Reports, v. 39, p. 101778, 2024.
- HICKS, W. H. *et al.* **Creation and Development of Patient-Derived Organoids for Therapeutic Screening in Solid Cancer.** Current stem cell reports, v. 8, n. 2, p. 107–117, 2022.

- KAUFMAN, C. K. **Cancer and Zebrafish: Mechanisms, Techniques, and Models**. Cham: Springer International Publishing, 2016. p. 439–450.
- KOBET, R. A. et al. **Caenorhabditis elegans: A Model System for Anti-Cancer Drug Discovery and Therapeutic Target Identification**. *Biomolecules & Therapeutics*, v. 22, n. 5, p. 371–383, 2014.
- LARRIBÈRE, L.; UTIKAL, J. **Stem Cell-Derived Models of Neural Crest Are Essential to Understand Melanoma Progression and Therapy Resistance**. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, v. 12, p. 111, 2019.
- MIRZOYAN, Z. et al. **Drosophila melanogaster: A Model Organism to Study Cancer**. *Frontiers in Genetics*, v. 10, 2019.
- QU, J. et al. **Tumor organoids: synergistic applications, current challenges, and future prospects in cancer therapy**. *Cancer Communications*, v. 41, n. 12, p. 1331–1353, 2021.
- RASOULI, M.; SAFARI, F. **Principles of Indirect Co-culture Method Using Transwell**. Em: *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer US, 2024.
- REBECCA, V. W. et al. **Pre-clinical modeling of cutaneous melanoma**. *Nature Communications*, v. 11, n. 1, p. 2858, 2020.
- ROUAUD, F. et al. **E2F1 inhibition mediates cell death of metastatic melanoma**. *Cell Death & Disease*, v. 9, n. 5, 2018.
- RUSSO, I. et al. **The Zebrafish model in dermatology: an update for clinicians**. *Discover Oncology*, v. 13, n. 1, 17 jun. 2022.
- SAMPLE, et al. **Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma**. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v. 34, n. 1, p. 13–24, 2018.
- SHARPE, J. L. et al. **Modelling Cancer Metastasis in Drosophila melanogaster**. *Cells*, v. 12, n. 5, p. 677–677, 2023.
- SHI, Y. et al. **Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress**. *Nature Reviews. Drug Discovery*, v. 16, n. 2, p. 115–130, 2017.
- YOO, J. et al. **Advances in cell coculture membranes recapitulating in vivo microenvironments**. *Trends in Biotechnology*, v. 41, n. 2, p. 214–227, 2023.
- ZHANG, S. et al. **Caenorhabditis elegans as a Useful Model for Studying Aging Mutations**. *Frontiers in Endocrinology*, v. 11, 5 out. 2020.
- ZHOU, S. et al. **Role of the tumor microenvironment in malignant melanoma organoids during the development and metastasis of tumors**. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 11, p. 1166916, 2023.