

Avaliação de modelos *in vivo* de caquexia oncológica induzida por xenotransplante de células de neuroblastoma em culturas 2D e 3D

Autora: Gabriela Esteves Sbardellotto

Orientadora: Claudiana Lameu

Co-orientadora: Lara MF Guimarães

Instituto de Química da Universidade de São Paulo

esteves.gabriela@usp.br

Introdução

A caquexia é uma síndrome metabólica multifatorial que se desenvolve frequentemente em quadros clínicos crônicos, como o câncer. O quadro caquético atinge grande parte dos pacientes oncológicos e é responsável por piorar o prognóstico, sendo responsável direto pelo óbito de 22% desses pacientes. A caquexia está associada à perda de tecido muscular, onde a perda de tecido adiposo pode, ou não, ocorrer, resultando em perda de peso corporal acentuada, estresse psicológico, incapacidade física e diminuição da qualidade de vida. [1], [2], [3]

Objetivos

O objetivo dessa pesquisa é analisar o desenvolvimento da síndrome da caquexia em camundongos xenotransplantados com células de neuroblastoma da linhagem SH-SY5Y em modelos 3D e 2D para correlacionar o grau de caquexia induzido pelo neuroblastoma com a presença de *Cancer Stem Cells* (CSCs) na massa tumoral, a fim de validar modelos *in vivo* para o estudo e pesquisa da caquexia do câncer. [4]

Métodos

A metodologia adotada para o presente projeto:

1. Ensaio *in vivo* com 15 camundongos machos atímicos nude (BALB/c Nude) fornecidos pelo biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foram aprovados pelo comitê de ética de uso de animais do Instituto de Química da USP (CEUA 126/2019). Os animais foram divididos em 3 grupos: nu/nu controle sem xenotransplante; nu/nu xenotransplantado com células cultivadas em cultura 2D (monocamada) e nu/nu xenotransplantado com células cultivadas em cultura 3D (tumoresferas). Foi realizado o monitoramento do peso corporal dos

animais por 90 dias seguido da eutanásia com isoflurano assim que o primeiro grupo atingiu o ponto final humanitário (endpoint), estabelecido pela IACUC.

2. Testes comportamentais (teste de tela invertida de Kondziela e Open Field) foram realizados para avaliar a força e atividade locomotora dos animais.

3. Análise dos órgãos coletados (peso, tamanho e biomarcadores de caquexia e da presença de CSCs).

4. Análise estatística dos resultados obtidos.

Resultados

Os três grupos analisados iniciaram o período do experimento com um peso médio de aproximadamente 24,5 g. Foi possível notar uma redução de peso significativa nos grupos xenotransplantados em torno do 60º dia. Em comparação ao grupo controle ($p \leq 0,05$) Entre os grupos monocamada (2D) e tumoresfera (3D) não houve diferença em relação ao peso corporal (Figura 1). No entanto, o volume tumoral foi significativamente maior no grupo monocamada quando comparado ao grupo tumoresfera (Figura 2). A análise dos órgãos e tecidos coletados pode ser observada, resumidamente, através dos gráficos a seguir, nos quais é possível encontrar algumas diferenças significativas entre os grupos estudados. Em ambos os modelos ocorreu uma perda de tecido adiposo epididimal (branco) bastante pronunciada (Figura 3). Entretanto, apenas no modelo de tumoresferas observou-se uma perda significativa do músculo esquelético tibial anterior (Figura 4). Enquanto que o tamanho do fígado de ambos os xenotransplantados foi significativamente maior que o controle (Figura 5).

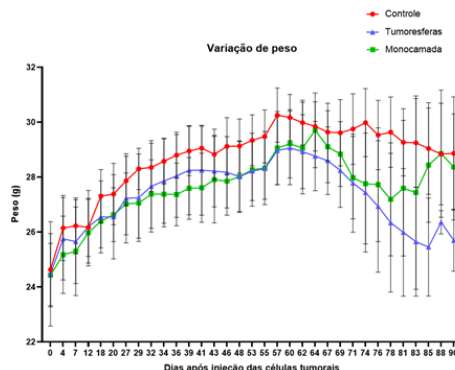


Figura 1: Análise da variação do peso dos animais por grupo (controle, monocamada e tumoresfera). As linhas representam a média \pm S.E., os dados foram analisados utilizando teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's e foram considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$; $n = 5$ em cada grupo.

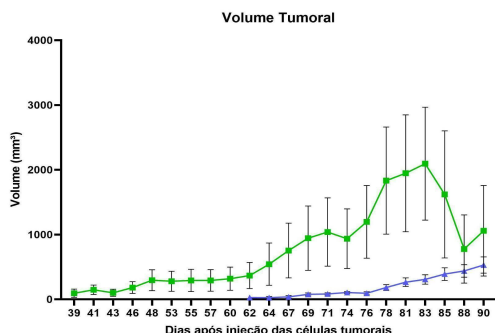


Figura 2: Efeito dos diferentes tipos de cultura celular no surgimento e crescimento tumoral *in vivo*. Volume tumoral [$\frac{1}{2}$ (comprimento \times largura²), mm³]. As linhas representam a média \pm S.E., os dados foram analisados utilizando teste de Mann-Whitney e foram considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$; $n = 5$ em cada grupo.

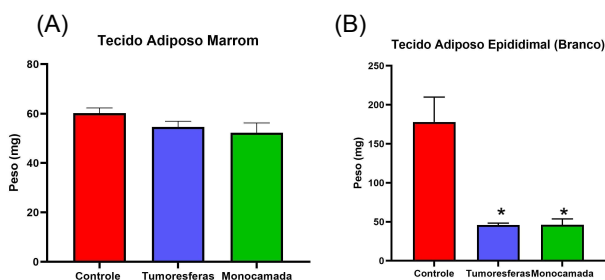


Figura 3 - Efeito dos diferentes tipos de cultura celular tumoral no tecido adiposo *in vivo*. (A) Peso do tecido adiposo marrom (TAM). (B) Peso do tecido adiposo epididimal (TAE). As linhas representam a média \pm S.E., os dados foram analisados utilizando teste One-Way ANOVA e foram considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$; $n = 5$ em cada grupo. *representa diferenças estatisticamente significativas comparado ao grupo controle.

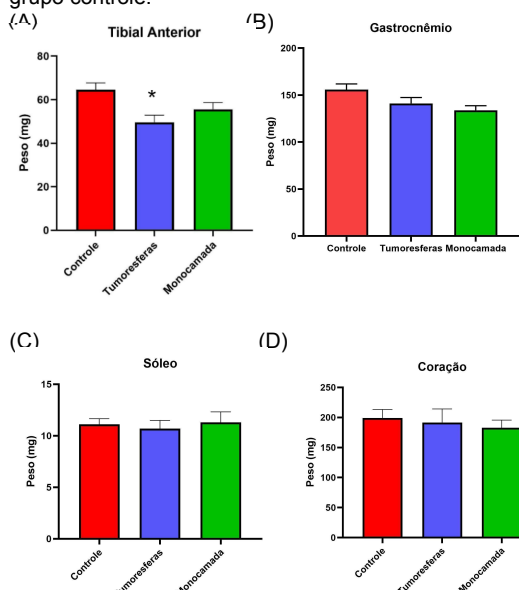


Figura 4 - Efeito dos diferentes tipos de cultura celular tumoral no tecido muscular *in vivo*. (A) Peso do músculo esquelético tibial anterior; (B) Peso do músculo esquelético gastrocnêmio; (C) Peso do músculo esquelético sóleo; e (D) Peso do coração. As linhas representam a média \pm S.E., os dados foram analisados utilizando teste One-Way ANOVA e foram considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$; $n = 5$ em cada grupo. *representa diferenças estatisticamente significativas comparado ao grupo controle.

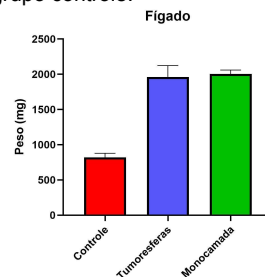


Figura 5 - Efeito dos diferentes tipos de cultura celular tumoral no fígado *in vivo*. Os dados foram analisados utilizando teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn's e foram considerados estatisticamente significativos quando $p \leq 0,05$; $n = 5$ em cada grupo. *representa diferenças estatisticamente significativas comparado ao grupo controle.

Conclusões Parciais

A partir dos dados obtidos, é possível observar que o modelo de caquexia oncológica feito com células 3D possibilita um melhor estudo dessa síndrome, visto que o tumor tem um desenvolvimento mais lento e existem menores variações entre os tumores dos animais. Também foi possível notar uma perda de peso mais acentuada no grupo de animais das tumoresferas. No entanto, para validação do modelo será necessária a realização de análises histológicas e imuno-histoquímicas.

Referências Bibliográficas

- Evans, W. J., Morley, J. E., Argilés, J., Bales, C., Baracos, V., Guttridge, D., ... Anker, S. D. (2008). Cachexia: A new definition. *Clinical Nutrition*, 27(6), 793–799. doi:10.1016/j.clnu.2008.06.013
- Peixoto da Silva, S., Santos, J. M. O., Costa e Silva, M. P., Gil da Costa, R. M., & Medeiros, R. (2020). Cancer cachexia and its pathophysiology: links with sarcopenia, anorexia and asthenia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. doi:10.1002/jcsm.12528;
- Argiles JM, Busquets S, Stemmler B, Lopez-Soriano FJ. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. *Nat Rev Cancer*. 2014;14:754–62 ;
- Kapalczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, et al. 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. *Arch Med Sci*. 2018;14(4):910-919. doi:10.5114/aoms.2016.63743.