

ZEBRAFISH: UM MODELO VERSÁTIL E EFICAZ NO ESTUDO DA RELAÇÃO CÂNCER E INFLAMAÇÃO

Zebrafish a versatile and effective model in study of relation to cancer and inflammation

Franciele Cardoso^{1#}, Eduardo Henrique Vieira Araújo^{2#}, Édilon Sembarski de Oliveira³, Ferdinando Agostinho⁴, Tony de Paiva Paulino⁵, Renata Botelho Miguel⁶, Javier Emílio Lazo Chica⁷, Camila Botelho Miguel⁸⁺, Wellington Francisco Rodrigues⁹⁺

¹Graduanda em Medicina. Faculdade Morgana Potrich - FAMP - Mineiros, GO, Brasil.

²Graduando em Medicina. Faculdade Morgana Potrich - FAMP - Mineiros, GO, Brasil.

³Graduando em Medicina. Faculdade Morgana Potrich - FAMP - Mineiros, GO, Brasil.

⁴Fisioterapeuta. Professor da Faculdade Morgana Potrich - FAMP - Mineiros, GO, Brasil;

⁵Farmacêutico Industrial. Professor do Centro de Educação Profissional - CEFORES, Universidade Federal do Triângulo Mineiro UFTM. - Uberaba, MG, Brasil.

⁶Nutricionista. Hospital Beneficência Portuguesa de Uberaba - Uberaba, MG, Brasil.

⁷Médico. Professor da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM. Uberaba, MG, Brasil.

⁸Biomédica. Doutoranda em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM. Uberaba, MG, Brasil.

⁹Biomédico. Professor da Faculdade Morgana Potrich - FAMP - Mineiros, GO, Brasil; Doutorando em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM. Uberaba, MG, Brasil. E-mail: wellington.frodriques@hotmail.com

Contribuído igualmente para este artigo.

+ Contribuído igualmente para este artigo.

*Não há conflito de interesse.

RESUMO

O câncer trata-se de uma forma ampla relacionada ao crescimento desordenado de células que invadem os órgãos e tecidos. Esforços têm sido feitos para se traçar novas estratégias de prevenção, tratamentos e cura. Para isto a ciência conta com um arsenal de modelos experimentais, dos quais são utilizados de acordo com os objetivos da pesquisa, dado a diversidade de vias entrelaçadas ao câncer. Um modelo recente, Zebrafish, está sendo explorado em diversos tipos de estudos, dado pelas suas características biológicas e a sua associação com vias de sinalização em humanos, incluindo do sistema imune. Entretanto uma abordagem ampla e associativa das possibilidades de aplicação do modelo, bem como a eficácia da utilização do mesmo podem favorecer e direcionar novos estudos. Assim, este trabalho objetivou abordar de forma associativa Zebrafish, câncer e inflamação. Realizamos um estudo retrospectivo e descritivo em banco de dados Norte-americano, nos últimos de 5 anos. Evidenciamos uma tendência na utilização do modelo com Zebrafish por apresentar algumas vantagens, tais como: versatilidade, baixo custo de manutenção e principalmente similaridade com as vias de sinalização em humanos. Além disso, encontramos uma variabilidade de aplicações relacionadas ao câncer e inflamação, desde elucidções da patogênese até aplicações em novas terapias. Contudo pelas associações aqui descritas, é notório que o modelo de teleósteeo Zebrafish é um sistema valioso para a análise experimental de oncogenes associado com processos inflamatórios *in vivo*, bem como para a identificação de alvos farmacológicos do câncer e para avaliar terapias antitumorais.

Palavras-chaves: Zebrafish, Inflamação, Câncer

ABSTRACT

Cancer it is a broadly related to uncontrolled growth of cells that invade the organs and tissues. Efforts have been made to map out new strategies for prevention, treatment and cure. For this science has an arsenal of experimental models, which are used according to the research objectives, given the diversity of pathways to cancer intertwined. A recent model, zebrafish, are being exploited in various kinds of studies, given by their biological characteristics and their association with signaling pathways in humans, including immune system. However a large and associative approach to model the application possibilities as well as the effective use of it can promote and drive new studies. This work aimed to address associatively Zebrafish, cancer and inflammation. We conducted a retrospective descriptive study in North American database, in the last 5 years. We see a trend in the use of Zebrafish model for presenting some advantages, such as versatility, low maintenance costs and especially similarity with the signaling pathways in humans. In addition, we found a variability of applications related to cancer and inflammation, since elucidation of the pathogenesis to applications in new therapies. However the associations described herein, it is clear that the model teleost is a zebrafish valuable system for experimental analysis of oncogenes associated with inflammatory processes in vivo as well as to identify pharmacological targets of cancer and to assess antitumor therapies.

Keywords: Zebrafish, Inflammation, Cancer

INTRODUÇÃO

As pesquisas médicas têm evoluído muito nas últimas décadas em razão da sublime colaboração de modelos experimentais, dos quais possibilitam aplicação de testes inovadores e pesquisas biológicas aprofundadas [1, 2]. Tais pesquisas visam compreender vias associadas a doenças, bem como a incorporação de novas possibilidades terapêuticas, com uma maior eficiência e menores efeitos colaterais [3, 4]. Assim, a ciência busca de forma incessante possibilidades de modelos que possam reportar de maneira fidedigna e ou próxima da área avaliada, associados a um menor uso de animais e modelos representativos que se distanciam filogeneticamente do homem [5, 6].

Recentemente um modelo tem-se destacado na literatura pela sua versatilidade quanto as possíveis aplicações [7]. Este modelo está associado com a utilização do Zebrafish (*Danio rerio*) [8-11]. Trata-se de um vertebrado, do qual foi incorporado com sucesso nas explorações laboratoriais, é nativo da Ásia e estudado desde a década de 60 [12]. Todavia há 35 anos está consolidado como modelo biológico de pesquisas pelo norte-americano George Streisinger [13, 14]. Também conhecido como paulistinha, é um peixe de água doce que, apesar de ser de pequeno porte, é de fácil manuseio e tem embrião transparente, fato que facilita o estudo das suas células [8]. Além disso, compartilha um genoma com grande similaridade ao dos humanos, tem alta fecundidade e curto ciclo de vida, o que se torna um alvo atrativo como modelo para o estudo do câncer [15], doença associada com alta taxa de mortalidade e morbidade em todo mundo [16]. Embora haja uma diversidade quanto as possíveis respostas funcionais do paciente um dos fatores que colaboram para o prognóstico do tipo câncer é a capacidade responsiva do sistema imune, dado não somente por processos de reparos, mas também pela ativação e diversos mediadores do sistema inflamatório [17].

Contudo a compreensão das respostas inflamatórias vinculadas ao câncer de um importante modelo em que se associa ao homem poderá contribuir de forma substancial para direcionamentos de novos estudos, dos quais objetivam a elucidação de possíveis vias atreladas ao câncer, assim como na busca de novas terapias medicamentosas.

METODOLOGIA

Abordagem retrospectiva a partir de uma revisão sistemática com metanálise. Para a condução da seleção, avaliação, exposição e conclusões dos dados foram conduzidas em concordância com o Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses-PRISMA [18].

Extração dos Dados e Critérios de Inclusão e Exclusão

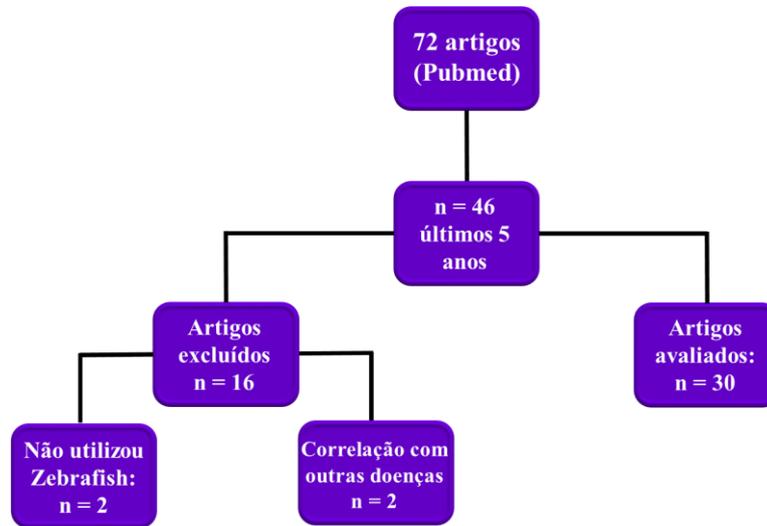
Utilizamos o banco de dados do Norte-Americano Pubmed, no período que compreende os últimos cinco anos (até 10/09/2016). Foram utilizados conjuntamente os descritores “zebrafish”, “cancer” e “inflammatory”. A abordagem compreendeu desde autores, datas de publicação, modelo até patologia relacionada, os objetivos e conclusões dos artigos selecionados. Para os estudos de revisões, e/ou que não apresentaram correlações com os descritores não foram considerados para este estudo.

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do programa “Instat e Prisma” da Graphpad (<http://www.graphpad.com>). Os dados foram relatados de forma descritiva em porcentagem. Análise univariada não-paramétrica (teste de Kruskalwallis) foi utilizada para grupos independentes e com distribuição não gaussiana. A associação de dados foi realizada através de regressão linear, e para correlação teste de Spearman. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Após a aplicação dos descritores “zebrafish”, “câncer” e “inflammatory” no banco de dados do Pubmed, foram relatados 70 artigos, após a seleção dos últimos 5 anos obtivemos 46 artigos. Destes, 16 foram excluídos por não discutirem o tema proposto para esta abordagem. Dos 16 artigos excluídos, apenas dois não utilizaram o Zebrafish como modelo experimental. Os outros 14 artigos excluídos destacam-se por não tratarem sobre câncer, mas sim assuntos como, estresse e obesidade (Fluxograma 1).



Fluxograma 1. Distribuição dos artigos encontrados nos últimos 5 anos no Pubmed com os descritores: “zebrafish”, “cancer” e “inflammatory”.

Os artigos avaliados neste estudo foram estratificados em: autores, datas de publicações, modelos utilizados, objetivos e conclusões (Quadro 1). Foram listados trinta trabalhos que relacionaram os descritores relatados aqui (seção materiais e métodos).

Quadro 1. Relação e estratificação de estudos indexados no Pubmed nos últimos 5 anos com os descritores: “zebrafish”, “câncer” e “inflammatory”.

Autor	Data	Modelo	Patologia	Objetivo	Conclusão
Cox <i>et al.</i> , [19].	2016; Sept.	Zebrafish – deficiente de SepH e P53.	Câncer gastrointestinal	Saber mais sobre a influência do SepH no desenvolvimento de células cancerígenas.	SepH é um micronutriente que está diretamente ligado com a prevenção de câncer.
Park <i>et al.</i> , [20].	2016 Aug.	Desenvolvimento de células tumorais no Zebrafish (Xenográfico).	Câncer de mama triplo negativo e metástase.	Sugerir que o antagonista de P2X7 tem potencial de bloquear metástase.	O antagonista de P2X7 impediu a migração e invasão do câncer.
Lai <i>et al.</i> , [21].	2016 Jul.	Faringe e intestino de Zebrafish transgênicos e nocautes.	Câncer gastrointestinal.	Investigar o que controla a expressão de arg2 (envolvido em tumores e metástases) na faringe e no intestino do zebrafish.	Foxa1 regula agr2 na faringe. Tanto Foxa2 quanto Hif1 α controlam agr2 nas células intestinais.
Lobert <i>et al.</i> , [22].	2016.	Genes que induzem a rápida proliferação de células epiteliais no intestino do Zebrafish.	Câncer colorretal.	Desenvolver fármacos para o câncer colorretal, que não aceita quimioterapia e que causa a morte de 700.000 pessoas anuais.	Futuramente, o uso de Zebrafish xenográfico de câncer colorretal poderá auxiliar no desenvolvimento de fármacos anti-metastáticos.

REVISTA SAÚDE MULTIDISCIPLINAR

Revista Eletrônica Saúde Multidisciplinar da Faculdade Morgana Potrich – Vol. IV

ISSN 2318 – 3780

linha continua...					
Cont...					
Beedie <i>et al.</i> , [23].	2016 Apr.	<i>In vivo</i> Zebrafish e embrião de galinha.	Mieloma múltiplo e Hanseníase.	Esforços têm sido feitos para sintetizar e identificar análogos da Talidomida seguros clinicamente.	Pesquisas nos citados modelos permitem a descoberta de terapias contra as condições cancerosas e inflamatórias.
Hu <i>et al.</i> , [24].	2015, Dec.	Zebrafish associados com outras espécies.	Diversos tumores podem aparecer devido a inibição do p53, que originalmente repara o DNA e induz a apoptose	Como a proteína supressora tumoral (p53) pode ser induzida por disparadores similares.	O fragmento 80kDa iASPP pode estimular ou inibir o p53 ou o RelA/p65 de forma mais eficiente do que o iASPP completo.
Elks <i>et al.</i> , [25].	2015, Nov.	Modelos doentes de Zebrafish.	Câncer, Inflamações e infecções bacterianas.	Discutir os recentes avanços da hipóxia e HIF's nas doenças	Componentes do HIF são potenciais alvos terapêuticos contra câncer e doenças infecciosas.
Jung <i>et al.</i> , [26].	2015, Jul.	<i>In vivo</i> Zebrafish transgênico com tumor hepático.	Hepato-carcinogênese.	Demonstrar a expressão de IL-6 no homem causando hepatocarcinogênese.	Evidência a relação entre inflamação crônica e tumorigênese e o papel da IL-6 na hepatocarcinogênese associada à inflamação.
Beedie <i>et al.</i> , [27].	2015, Oct.	Zebrafish. Câncer de próstata humano. Embrião de galinha. Células endoteliais umbilical humana.	Várias doenças malignas.	Demonstrar as propriedades antiogênicas do novo composto análogos à talidomida e tetrafluorado.	Novos análogos como uma promissora classe imunomoduladora de anticancerígenos.
Zhang <i>et al.</i> , [28].	2015.	Embrião de Zebrafish.	Muitas doenças degenerativas, incluindo câncer.	Propõe-se tratamento com células estaminais retiradas do embrião do Zebrafish.	Alterações epigenéticas levam a um dano grave dos sistemas neuro, endócrino, imunológico e metabólico.
Lee <i>et al.</i> , [29].	2015, Aug.	Zebrafish, obesidade e tratamento com anti-tumoral.	Kaempferol é anti-oxidante, anti-inflamatório e anti-tumoral.	Efeitos anti-adipogênicos do kaempferol durante a diferenciação de adipócitos,	Kaempferol inibe a acumulação de lipídeos nos adipócitos e inibe a progressão do ciclo celular. Então tem efeito anti-obesidade.
Antonio <i>et al.</i> , [30].	2015, Sep.	Larvas translúcidas de Zebrafish.	Melanoma.	Há uma forte correlação entre a presença de neutrófilos nos locais de melanoma e proliferação de células nesses locais.	Ferimentos repetidos com subsequente inflamação leva a uma maior incidência de formação de melanomas
Yan <i>et al.</i> , [31].	2015, Aug.	Indução da expressão oncogênica nos	Hepatocarcinogênese.	Investigar a respostas e os papéis dos neutrófilos na	A inflamação dos hepatócitos após a indução dos oncogênicos

REVISTA SAÚDE MULTIDISCIPLINAR

Revista Eletrônica Saúde Multidisciplinar da Faculdade Morgana Potrich – Vol. IV

ISSN 2318 – 3780

		hepatócitos de Zebrafish (transgênicos).		hepatocarcinogênese prematura.	convoca os neutrófilos que promovem a hepatocarcinogênese.
Shive <i>et al.</i> , [32].	2015, Jun.	Zebrafish transgênico.	Câncer ovariano.	Observar a influência da expressão de KRAS (G12V) no Zebrafish fêmea e como ele induz a hiperplasia.	KRAS (G12V) transforma células em inflamatórias, mas pode necessitar de eventos mutacionais adicionais para a transformação neoplásica.
Ramezani <i>et al.</i> , [33].	2015, Feb.	Células epiteliais do Zebrafish.	Células pré-neoplásicas e estágios primitivos de tumorigêneses.	Descrever um método para induzir a transformação celular epitelial condicionada pelo uso de 4-OHT indutível por UAS.	Conseguiram observar a imagem do início da transformação celular e a resposta do hospedeiro.
Feng <i>et al.</i> , [34].	2015.	Uso do Zebrafish como poderoso sistema de obtenção de novas perspectivas sobre diversos aspectos da saúde humana.	Inclui doenças inflamatórias, agudas ou crônicas, auto-imunes e câncer.	Manipulação da expressão gênica no Zebrafish e a atuação da galectina que regula a homeostase e reconhece patógenos.	Galectinas atuam na modulação de processos patológicos importantes (câncer) e podem preceder a descoberta de fármacos inovadores.
Zhang <i>et al.</i> , [35].	2014, Nov.	Zebrafish e endoderma de rato.	Quimiorresistência à malignidade. Diabetes e câncer.	Identificação de anexina 4 envolvido na sobrevivência das células do fígado.	Anexina 4 pode ter implicações para o mecanismo de apoptose de cél. β diabéticas e cél. cancerígenas resistentes.
Hall <i>et al.</i> , [36].	2014, Sep.	Ensaio de migração de neutrófilos em Zebrafish.	Dermatoses inflamatórias, diabetes tipo 2 e câncer.	Identificar as atividades anti-inflamatórias desconhecidas de drogas conhecidas.	O Zebrafish é uma promessa para revelar novas atividades anti-inflamatórias.
Tang <i>et al.</i> , [37].	2014, Jun.	Vesículas óticas dos embriões de Zebrafish.	Crescimento de células cancerígenas, metástase, asma, doença inflamatória intestinal.	Expressão do gradiente anterior 2 nos canais semicirculares e regulação das células de suporte das vesículas óticas.	A expressão <i>agr2</i> nas vesículas óticas de embriões de Zebrafish é regulada por SOX10.
Thakur <i>et al.</i> , [38].	2014, Jan	Zebrafish mutante <i>cdipt</i> (<i>hi559</i>).	Malignidades e estado inflamatório gastrointestinal.	Necessidade de estudar os papéis da PI, já que sua desregulação tem sido implicada nas malignidades GI e estados inflamatórios.	Desregulação da sinalização fosfatidilinositol promove a lesão da mucosa intestinal.
Tootle [39].	2013, Aug.	Camundongo, Zebrafish e sistema de modelo invertebrado.	Doenças cardiovasculares e câncer.	Discussão dos papéis das PG's em câncer, desenvolvimento e reprodução utilizando as abordagens nocaute e superexpressão gênica.	Estudos genéticos demonstraram que a inibição farmacológica da síntese de PG afeta a saúde/doença cardiovascular e a incidência de câncer.

REVISTA SAÚDE MULTIDISCIPLINAR

Revista Eletrônica Saúde Multidisciplinar da Faculdade Morgana Potrich – Vol. IV

ISSN 2318 – 3780

van der Vaart <i>et al.</i> , [40].	2013, May.	Zebrafish mutante myd88.	Desordens inflamatórias e câncer.	A análise funcional do Zebrafish identificando componentes essenciais da transcrição do sistema imune inato.	Zebrafish será ferramenta para estudo mais aprofundado do papel de IL1R e sinalização dos TLR nos processos de doenças infecciosas e desordens inflamatórias e câncer.
Yu <i>et al.</i> , [41].	2013, Sep.	Embrião de Zebrafish e HUVECs.	Tratamento contra impotência, osteoporose tumores.	Analisar e constatar a atividade anti-angiogênica da erva usando tanto o modelo <i>in vivo</i> , quanto o <i>in vitro</i> .	<i>Herba Epimedii</i> pode inibir a angiogênese, sendo seu mecanismo de ação anti-inflamatória e anti-tumoral.
Wang <i>et al.</i> , [42].	2013, Apr.	Cinco tipos de teleósteos: rainbow trout, fugu, Atlantic salmon, catfish e Zebrafish.	Inflamação, autoimunidade, câncer e órgãos transplantados.	Identificação de IL-34 em peixes teleósteos	IL-34 é sensível à processos inflamatórios.e pode regular a ação dos macrófagos, quando regulada.
Mione e Zon, [43].	2012, Jul.	Zebrafish.	Câncer.	Interações entre células transformadas por oncogenes e leucócitos no Zebrafish revelando que PGE(2) promove a sobrevivência e proliferação das células cancerosas.	Não-esteróides anti-inflamatórios, como a aspirina, são os inibidores da produção de PGE (2) e podem ser usados com outros agentes anti-tumorais no tratamento do câncer.
Goldsmith e Jobin [44].	2012.	Zebrafish.	Câncer de pâncreas, doenças inflamatórias intestinais, doença hepática, e infecção por <i>Mycobacterium</i> .	Zebrafish como importante modelo de estudo das patologias humanas.	A lista de vantagens do Zebrafish contra os clássicos modelos de vertebrados é multifatorial.
Lai <i>et al.</i> , [45].	2012.	Embrião de Zebrafish e HUVECs.	Câncer.	Investigar as atividades anti-angiogênicas de PA nos modelos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> .	O PA, além de anti-inflamatórias e anti-câncer, foi sugerido como um possível agente na terapia contra o câncer.
Feng <i>et al.</i> , [46].	2012, Jul.	Larvas de Zebrafish.	Câncer em estágio inicial.	Iniciação de um tumor em larvas do Zebrafish revela um papel trófico para PGE ₂ derivados de leucócitos.	O experimento fornece uma potencial explicação sobre o uso a longo prazo porém, em baixas doses de NSAIDs (aspirina) reduzindo o aparecimento de câncer.
Dang <i>et al.</i> , [47].	2012, Jun.	Ratos e Zebrafish.	Câncer esofágico.	Ao contrário de precursores de neuropeptídeos tradicionalmente segregadas, Ecr4 localiza à superfície das células epiteliais e permanece presa	Ecr4 tem um papel multifuncional, este é dependente da sua célula de origem e da forma de produção molecular .

				depois da secreção.	
Park e Cho, [48].	2011, Dec.	Embrião Zebrafish.	de Doenças cardiovasculares e câncer.	Zebrafish utilizado para a avaliação rápida da morte por pró-oxidação e inflamação pelos lipopolissacarídeos.	Método rápido e econômico para rastrear agentes antioxidantes e anti-inflamatórios.

Inicialmente verificamos a distribuição da média mensal de publicações com os descritores aqui utilizados. Para esta mensuração avaliamos todos os artigos indexados no Pubmed (N = 70) no período de 2001 à 2016. A frequência relativa mensal foi obtida pela média anual, onde obtivemos uma média±erro padrão de 0,36±0,08 de artigos mensais. Curiosamente verificamos uma correlação positiva (Spearman $r = 0,83 - p < 0,0001$), demonstrando uma ascensão da descrição da associação do modelo Zebrafish, inflamação e câncer (Figura 1).

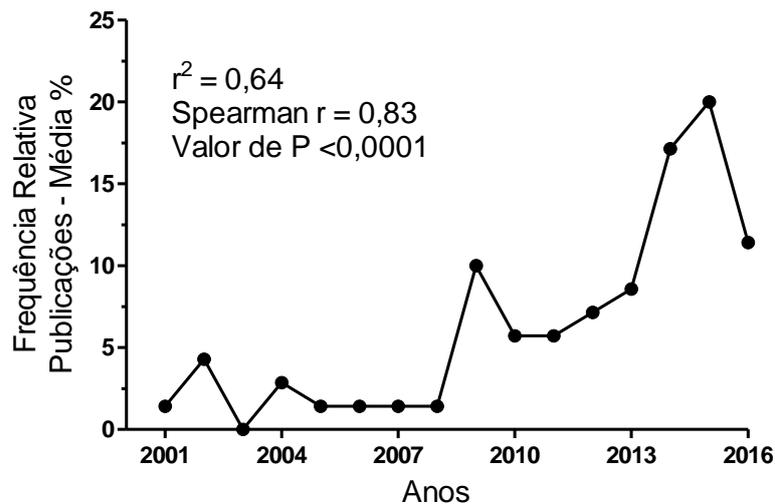


Figura 1 Frequência relativa mensal de publicações pelo número de publicações anuais. A frequência de publicações foi obtida pelo cálculo da porcentagem da média mensal de publicações em todo o período avaliado (N = 70 artigos). O valor de r^2 foi obtido por regressão linear e a correlação por teste de Spearman, onde as diferenças foram consideradas significativas com $p < 0,05$.

Posteriormente verificamos os estilos dos modelos utilizados nos artigos. Todos os trabalhos avaliados (100%) utilizaram como modelo o Zebrafish. Entre os modelos avaliados obtivemos 7% para peixes nocaute, 13% para transgênicos, 3% para modelo tumoral xenoinduzido e em diferentes etapas de desenvolvimento: embrião, larvas e adultos. Também verificamos a utilização do modelo associado com outros modelos (35%). Além disso,

verificamos a distribuição do tipo de modelo mais estudado até o momento para Câncer, onde encontramos 60% ($p < 0,05$), tratando-se de modelos mistos, onde os estudos abordam em sua maioria mecanismos regulatórios envolvidos na fisiopatogênese tumoral (ex.: regulação de p53). A frequência é seguida por câncer gastrointestinal (10%), hepático (6,67%), mama (3,33%), colorretal (3,33%), melanoma (3,33%), ovariano (3,33%), intestinal (3,33%), pâncreas (3,33%) e esôfago (3,33%) (Figura 2).

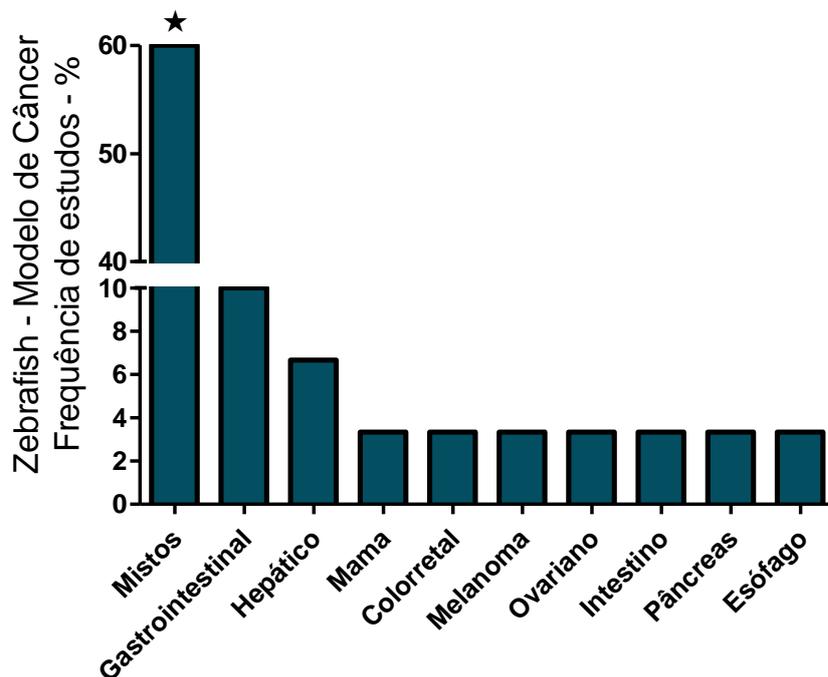


Figura 2 Distribuição das frequências dos modelos de câncer em estudo com Zebrafish. As frequências foram obtidas após a contabilização dos tipos de câncer estudados nos últimos 5 anos, publicados no Pubmed. Após a contabilização calculou-se a frequência relativa para cada câncer estudado – expresso em porcentagem. Para as comparações das frequências anuais foi utilizado o teste de Kruskal-wallis seguido do pós teste de Dunns. Foi considerado significativo quando $p < 0,05$.

As compreensões de como estes modelos estão sendo empregados, bem como o resultado e conclusões destes trabalhos são importantes para relacionar a eficiência dos mesmos. Podemos verificar que entre os trabalhos abordados, 66,67% abordam mecanismos que se relacionam com a fisiopatogênese, ao passo que 26,66% já direcionam para tratamentos ou mecanismos regulatórios do desenvolvimento tumoral, e ainda cerca de 6,66% associa Zebrafish para novas aplicações (Figura 3a). De forma fabulosa em todos os modelos inflamatórios

associado com câncer houve uma notória e expressiva satisfação quanto às conclusões dos resultados (96,67%) (Figura 3b).

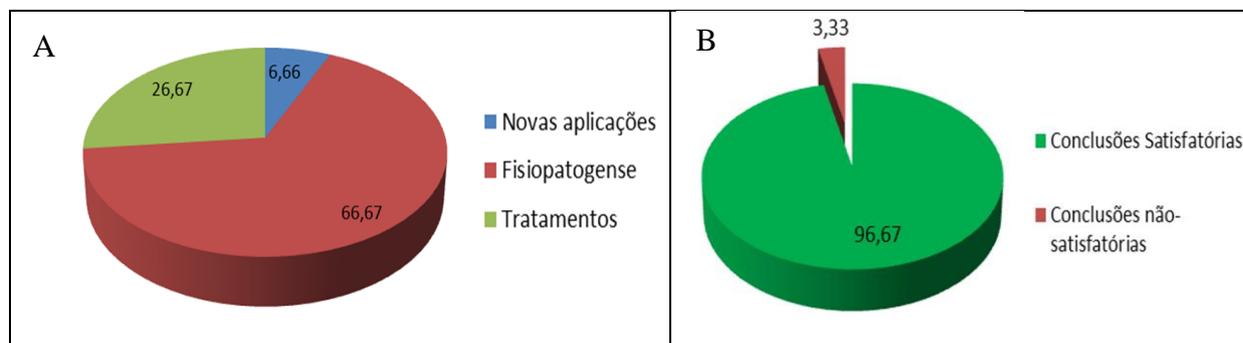


Figura 3. Distribuição dos manejos e satisfação dos modelos inflamatórios associados ao câncer.

DISCUSSÃO

Nosso estudo através da utilização dos descritores “zebrafish”, “cancer” e “inflammatory” em base de dados Norte-Americano (Pubmed), possibilitou a realização de uma abordagem ampla, estabelecendo desde os principais modelos utilizados para a relação de câncer e inflamação com Zebrafish, até a observação de uma projeção significativa da utilização do Zebrafish como modelo de relação entre inflamação e câncer. Além disso, o modelo citado através de sua versatilidade possibilita desde aplicações em alguns tipos de câncer, até a compreensão da fisiopatogênese e também diferentes formas de intervenções, como tratamentos. Somado a isto, verificamos um percentual elevadíssimo de satisfação nos resultados e conclusões de estudos que utilizaram o Zebrafish.

Em vista da importância dos estudos de tumorigênese e da possibilidade de investigar as respostas imunes contra o câncer, o Zebrafish tornou-se um modelo que tem se destacado muito nos últimos anos [7]. Diversos modelos são atualmente utilizados para mimetizar a fisiopatogênese de vários tipos de câncer. No entanto a ciência busca por modelos, que possuem algumas características peculiares que permitem a progressão das pesquisas de forma eficiente, com baixo custo, reprodutibilidade e principalmente que possa mimetizar vias de sinalizações humanas [28].

O modelo em questão, além de ser facilmente manuseado, ter embrião transparente, alta fecundidade e curto ciclo de vida, também contempla de um genoma com enorme similaridade ao dos humanos, todos esses fatos somados dão ao Zebrafish vantagens sobre outros organismos

quando selecionados para escolha durante o estudo de doenças como o câncer [7]. Nosso estudo demonstra que este modelo é estudado em diversos tipos de câncer, incluindo câncer de mama, colorretal, gastrointestinal, ovariano, intestinal, pancreático, melanoma, hepático e esofágico; ainda com o emprego do modelo na busca e compreensão de diversas vias de sinalização. Também verificamos a relação com vias inflamatórias associadas ao desenvolvimento e controle de disseminação cancerígena. Outros estudos utilizam modelos mais consagrados que avaliam vias de sinalização, por quimiocinas, citocinas relacionando com tumores [49, 50]. Por outro lado, nossos dados demonstram uma forte tendência para modelos alternativos, ressaltado pelos números de trabalhos que viabilizaram suas abordagens utilizando o Zebrafish. Somado a isto, alguns outros modelos tem sido explorados, ainda que *in vitro* [51]. Entretanto vale considerar a diversidade de possibilidades de vias que poderão culminar em uma célula tumoral, bem como a sua associação com o sistema imune e respostas inflamatórias, desta forma ainda que se busque a excelência nos modelos testados, deve-se ater para os objetivos do estudo, bem como as características biológicas do modelo a ser testado.

CONCLUSÃO

Concluimos que pelas associações aqui descritas, é notório que o modelo de teleósteo Zebrafish é um sistema valioso para a análise experimental de oncogenes associado com processos inflamatórios *in vivo*, bem como para a identificação de alvos farmacológicos do câncer e para avaliar terapias antitumorais. Havendo ainda, a possibilidade da exploração do modelo em outros tipos de câncer, dado pelas suas qualidades adentradas na ciência humana.

REFERÊNCIAS

1. Ferreira LM, Hochman B, Barbosa MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. Acta Cirurgica Brasileira. 2005.
2. Silva MTA, Guerra LGG, Alves CRR. Modelos comportamentais em neurociências. Revista Brasileira de Análise do Comportamento. 2015;1(2).
3. McQuay H, Carroll D, Jadad AR, Wiffen P, Moore A. Anticonvulsant drugs for management of pain: a systematic review. Bmj. 1995;311(7012):1047-52.
4. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4

treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The lancet oncology*. 2015;16(4):375-84.

5. Merayo-Llodes J, Yáñez B, Mayo A, Martín R, Pastor JC. Experimental model of corneal haze in chickens. *Journal of refractive surgery*. 2001;17(6):696-9.

6. de Sousa Mendes VRM. Phenolic compounds and cellular redox homeostasis: role in antioxidant protection and anti-tumoral effects. 2016.

7. Silveira TRd, Schneider AC, Hammes TO. Zebrafish: modelo consagrado para estudos de doenças humanas. *Ciência e Cultura*. 2012;64(2):4-5.

8. Schneider ACR, dos Santo J, Porawski M, Schaefer PG, Maurer RL, Matte U, et al. Implementação de um Novo Modelo de Experimentação Animal-Zebrafish. *Rev HCPA*. 2009;29:100-3.

9. Sant'Anna MCB. Zebrafish (*Danio rerio*) como modelo para estudo da toxicidade induzida pelo ferro. 2009.

10. Grunwald DJ, Eisen JS. Headwaters of the zebrafish—emergence of a new model vertebrate. *Nature reviews genetics*. 2002;3(9):717-24.

11. Strähle U, Scholz S, Geisler R, Greiner P, Hollert H, Rastegar S, et al. Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments—a commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. *Reproductive Toxicology*. 2012;33(2):128-32.

12. Kimmel CB, Warga RM, Schilling TF. Origin and organization of the zebrafish fate map. *Development*. 1990;108(4):581-94.

13. Southwell M, McRobert S. Zebrafish as a Model Organism to Study Melatonin Mechanisms and Treatments. *Current Psychopharmacology*. 2016;5(2):85-95.

14. Streisinger G, Singer F, Walker C, Knauber D, Dower N. Segregation analyses and gene-centromere distances in zebrafish. *Genetics*. 1986;112(2):311-9.

15. Amatruda JF, Shepard JL, Stern HM, Zon LI. Zebrafish as a cancer model system. *Cancer cell*. 2002;1(3):229-31.

16. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *Journal of clinical oncology*. 2006;24(14):2137-50.

17. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *The lancet*. 2001;357(9255):539-45.

18. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Annals of internal medicine*. 2009;151(4):264-9.

19. Cox AG, Tsomides A, Kim AJ, Saunders D, Hwang KL, Evason KJ, et al. Selenoprotein H is an essential regulator of redox homeostasis that cooperates with p53 in development and tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016:201600204.

20. Park J-H, Williams DR, Lee J-H, Lee S-D, Lee J-H, Ko H, et al. Potent Suppressive Effects of 1-Piperidinylimidazole Based Novel P2X7 Receptor Antagonists on Cancer Cell Migration and Invasion. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016;59(16):7410-30.

21. Lai Y-R, Lu Y-F, Lien H-W, Huang C-J, Hwang S-PL. Foxa2 and Hif1 α regulate maturation of intestinal goblet cells by modulating agr2 expression in zebrafish embryos. *Biochemical Journal*. 2016:BCJ20160392.

22. Lobert VH, Mouradov D, Heath JK. Focusing the Spotlight on the Zebrafish Intestine to Illuminate Mechanisms of Colorectal Cancer. *Cancer and Zebrafish: Springer*; 2016. p. 411-37.

23. Beedie SL, Rore HM, Barnett S, Chau CH, Luo W, Greig NH, et al. In vivo screening and discovery of novel candidate thalidomide analogs in the zebrafish embryo and chicken embryo model systems. *Oncotarget*. 2016;7(22):33237-45.
24. Hu Y, Ge W, Wang X, Sutendra G, Zhao K, Dedeić Z, et al. Caspase cleavage of iASPP potentiates its ability to inhibit p53 and NF- κ B. *Oncotarget*. 2015;6(40):42478.
25. Elks PM, Renshaw SA, Meijer AH, Walmsley SR, van Eeden FJ. Exploring the HIFs, butts and maybes of hypoxia signalling in disease: lessons from zebrafish models. *Disease Models and Mechanisms*. 2015;8(11):1349-60.
26. Jung IH, Choi JH-K, Chung Y-Y, Lim G-L, Park Y-N, Park SW. Predominant activation of JAK/STAT3 pathway by interleukin-6 is implicated in hepatocarcinogenesis. *Neoplasia*. 2015;17(7):586-97.
27. Beedie SL, Peer CJ, Pisle S, Gardner ER, Mahony C, Barnett S, et al. Anticancer properties of a novel class of tetrafluorinated thalidomide analogues. *Molecular cancer therapeutics*. 2015;14(10):2228-37.
28. Zhang S, Li J, Song S, Li J, Tong R, Zang Z, et al. Integrated in silico and experimental methods revealed that Arctigenin inhibited angiogenesis and HCT116 cell migration and invasion through regulating the H1F4A and Wnt/ β -catenin pathway. *Molecular BioSystems*. 2015;11(11):2878-84.
29. Lee Y-J, Choi H-S, Seo M-J, Jeon H-J, Kim K-J, Lee B-Y. Kaempferol suppresses lipid accumulation by inhibiting early adipogenesis in 3T3-L1 cells and zebrafish. *Food & function*. 2015;6(8):2824-33.
30. Antonio N, Bønnelykke-Behrndtz ML, Ward LC, Collin J, Christensen IJ, Steiniche T, et al. The wound inflammatory response exacerbates growth of pre-neoplastic cells and progression to cancer. *The EMBO journal*. 2015;34(17):2219-36.
31. Yan C, Huo X, Wang S, Feng Y, Gong Z. Stimulation of hepatocarcinogenesis by neutrophils upon induction of oncogenic kras expression in transgenic zebrafish. *Journal of hepatology*. 2015;63(2):420-8.
32. Shive HR, West RR, Embree LJ, Sexton JM, Hickstein DD. Expression of KRASG12V in Zebrafish Gills Induces Hyperplasia and CXCL8-Associated Inflammation. *Zebrafish*. 2015;12(3):221-9.
33. Ramezani T, Laux DW, Bravo IR, Tada M, Feng Y. Live imaging of innate immune and preneoplastic cell interactions using an inducible Gal4/UAS expression system in larval zebrafish skin. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2015(96):e52107-e.
34. Feng C, Nita-Lazar M, González-Montalbán N, Wang J, Mancini J, Ravindran C, et al. Manipulating galectin expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Galectins: Methods and Protocols*. 2015:327-41.
35. Zhang D, Golubkov VS, Han W, Correa RG, Zhou Y, Lee S, et al. Identification of Annexin A4 as a hepatopancreas factor involved in liver cell survival. *Developmental biology*. 2014;395(1):96-110.
36. Hall CJ, Wicker SM, Chien A-T, Tromp A, Lawrence LM, Sun X, et al. Repositioning drugs for inflammatory disease—fishing for new anti-inflammatory agents. *Disease Models and Mechanisms*. 2014;7(9):1069-81.
37. Tang C-H, Lai Y-R, Chen Y-C, Li C-H, Lu Y-F, Chen H-Y, et al. Expression of zebrafish anterior gradient 2 in the semicircular canals and supporting cells of otic vesicle sensory patches is regulated by Sox10. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*. 2014;1839(6):425-37.

38. Thakur PC, Davison JM, Stuckenholtz C, Lu L, Bahary N. Dysregulated phosphatidylinositol signaling promotes endoplasmic-reticulum-stress-mediated intestinal mucosal injury and inflammation in zebrafish. *Disease Models and Mechanisms*. 2014;7(1):93-106.
39. Tootle TL. Genetic insights into the in vivo functions of prostaglandin signaling. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2013;45(8):1629-32.
40. van der Vaart M, van Soest JJ, Spaink HP, Meijer AH. Functional analysis of a zebrafish myd88 mutant identifies key transcriptional components of the innate immune system. *Disease Models and Mechanisms*. 2013;6(3):841-54.
41. Yu X, Tong Y, Han XQ, Kwok HF, Yue GGL, Lau CBS, et al. Anti-Angiogenic Activity of Herba Epimedii on Zebrafish Embryos In Vivo and HUVECs In Vitro. *Phytotherapy Research*. 2013;27(9):1368-75.
42. Wang T, Kono T, Monte MM, Kuse H, Costa MM, Korenaga H, et al. Identification of IL-34 in teleost fish: differential expression of rainbow trout IL-34, MCSF1 and MCSF2, ligands of the MCSF receptor. *Molecular immunology*. 2013;53(4):398-409.
43. Mione M, Zon LI. Cancer and inflammation: an aspirin a day keeps the cancer at bay. *Current Biology*. 2012;22(13):R522-R5.
44. Goldsmith J, Jobin C. Think small: zebrafish as a model system of human pathology. *BioMed Research International*. 2012;2012.
45. Lai S-L, Cheah S-C, Wong P-F, Noor SM, Mustafa MR. In vitro and in vivo anti-angiogenic activities of Panduratin A. *PloS one*. 2012;7(5):e38103.
46. Feng Y, Renshaw S, Martin P. Live imaging of tumor initiation in zebrafish larvae reveals a trophic role for leukocyte-derived PGE 2. *Current Biology*. 2012;22(13):1253-9.
47. Dang X, Podvin S, Coimbra R, Eliceiri B, Baird A. Cell-specific processing and release of the hormone-like precursor and candidate tumor suppressor gene product, Ecr4. *Cell and tissue research*. 2012;348(3):505-14.
48. Park K-H, Cho K-H. A zebrafish model for the rapid evaluation of pro-oxidative and inflammatory death by lipopolysaccharide, oxidized low-density lipoproteins, and glycated high-density lipoproteins. *Fish & shellfish immunology*. 2011;31(6):904-10.
49. Atrekhany K-S, Drutskaya M, Nedospasov S, Grivennikov S, Kuprash D. Chemokines, cytokines and exosomes help tumors to shape inflammatory microenvironment. *Pharmacology & Therapeutics*. 2016.
50. Hichami A, Yessoufou A, Ghiringhelli F, Salvadori F, Moutairou K, Zwetyenga N, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha deficiency impairs regulatory T cell functions: possible application in the inhibition of melanoma tumor growth in mice. *Biochimie*. 2016.
51. Rodrigues D, Monteiro M, Jerónimo C, Henrique R, Belo L, de Lourdes Bastos M, et al. Renal cell carcinoma: a critical analysis of metabolomic biomarkers emerging from current model systems. *Translational Research*. 2016.