

Desenvolvimento de esferóides de melanoma humano como modelo alternativo ao uso de animais de laboratório

[Alex Alves Rodrigues¹](#), [Alex Alves Rodrigues¹](#), [Marlos Cortez Sampaio²](#), [Giovana Dias da Silva¹](#), [Esther Carolina dos Santos¹](#), [Suleyna Ribeiro Prudente¹](#), [Mavelle Maria Paz Lima¹](#), [Daniel Perez Vieira¹](#)

1 Centro de Biotecnologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)

2 Sapiens/Alesco

Introdução: Modelos animais têm sido essenciais em pesquisas biomédicas, impulsionando avanços significativos em diversas áreas. Sua seleção é pautada pelos objetivos do estudo, permitindo reproduzir patologias ou condições investigadas. Entretanto, questões éticas devem ser consideradas, seguindo os princípios dos 3R's (redução, refinamento e substituição) para minimizar o uso de animais sempre que viável. Neste sentido, destacam-se os sistemas de cultivos de células *in vitro* tridimensionais (3D). Apesar de representar perto de 1% do total de casos, a mortalidade observada entre os casos de melanoma é superior a 50%, tornando-o um alvo relevante de novas pesquisas e novos tratamentos. Considerando a relevância do câncer e a necessidade de testar e validar novas moléculas e terapêuticas eficazes para o tratamento oncológico o objetivo do presente trabalho é padronizar um modelo de cultivo 3D de melanoma humano para testes iniciais de novas terapias, refinando, assim, somente aqueles tratamentos eficazes para prosseguir com os demais testes em animais e seres humanos. **Material e Métodos:** Células SK-MEL-37 foram cultivadas à temperatura de 37° C em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂., mantidas em meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos. Ao atingir a confluência entre 60-70%, as células foram destacadas com solução de tripsina (0,05%). Os esferóides foram preparados usando a técnica hanging-drop adaptado de (JEONG et al., 2022). Foram depositados 440 µL de meio com variações de 2×10^3 à 6×10^4 células por poço de uma placa de 96 poços, gerando um menisco positivo. A placa foi invertida e cultivada em incubadora conforme descrito. **Resultados:** As preparações produziram esferóides compactos, de tamanho homogêneo na faixa de 500 a 1000 µm após 4 dias de cultivo, com proporções variáveis de células inviáveis marcadas com fluoróforos e analisados por microscopia de fluorescência de campo amplo conforme a quantidade inicial de células. **Conclusão:** Com base nos resultados obtidos foi possível desenvolver um protótipo inicial de esferóides de células de melanoma humano que mimetize de forma adequada o microambiente tumoral. Os resultados aqui apresentados são resultados preliminares e são necessárias novas avaliações para validar esse modelo como um refinamento ao uso de animais de laboratório. Referência: JEONG, Y.; TIN, A.; IRUDAYARAJ, J. Flipped Well-Plate Hanging-Drop Technique for Growing Three-Dimensional Tumors. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 10, p. 898699, 4 jul. 2022.