

## **Subproject 10:** Evaluation of the extracellular matrix and reactive oxygen species in the tumor microenvironment

**Principal Investigator:** *Maria Angelica Miglino*

### **Abstract**

The extracellular matrix is the essential component for determining the tumor microenvironment. Its modulation not only influences and alters the phenotypes of cells that reside therein as may also affect the effectiveness of established treatments (Correia & Bissell, 2012; Veiseh et al., 2014). Important advances have been achieved in understanding the phenotype and genotype of tumor cells. However, little effort was designed to analyze and characterize of its stroma portion, namely, the extracellular matrix (Boudreau et al., 2012). In some tumors, it has been shown that extracellular matrix components favor the survival of tumor cells by stimulating the production of reactive oxygen species (ROS - reactive oxygen species) (Edderkaoui et al., 2005). These are generated intracellularly by both the catalytic action of enzymes during the process of electron transfer in cellular metabolism and by exogenous factors (such as extracellular-matrix-binding proteins) that allow direct interaction and activation of specific receptors on the cell membrane (Sauer et al., 2001). Reactive oxygen species function as second messengers in signaling cascades, such as, cell proliferation and differentiation. The literature is sparse on information about possible changes in the extracellular matrix and the presence of intracellular ROS after immunotherapy and hyperthermia treatments for cancer, which justifies this study.

### **Goals**

Evaluate the extracellular matrix and reactive oxygen species in the tumor microenvironment in a murine model of osteosarcomas. Furthermore, using a new tool for the reconstruction of tissues affected by tumors through vascular biological scaffolds derived from decellularized placentas.

### **Specific Goals**

1. *Evaluate the constitutional changes of extracellular matrix along the different stages of the disease, as well as after different treatments in vivo;*

2. Analyze the correlation of the matrix composition with the phenotypes of cells isolated from tumors with and without treatment;
3. Determine intracellular ROS levels by flow cytometry, of isolated cells from tumors at different stages of evolution, with and without treatment;
4. Standardize obtaining a biological biomaterial from the decellularization placentas, tissue commonly discarded after birth;
5. Perform the repopulation of the acellular biological biomaterial derived from placenta, with cells of the yolk sac and bone marrow and evaluation of its osteogenic differentiation;
6. To evaluate the behavior "in vivo", in murine models, of bone regeneration from the acellular biomaterial and cells described above.

### Schedule of execution related to six-year project

Specific Goals	Semesters											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1												
2												
3												
4												
5												
6												

### Researchers:

**Carla M. F. de Carvalho Miranda**

**Paula Fratini**

**Sonja Ellen Lobo**

**Luciano César P. C. Leonel**

**Paulo César Maiorka**

## **Subprojeto 10: Avaliação da matriz extracelular e espécies reativas de oxigênio no microambiente tumoral**

**Coordenador:** *Maria Angelica Miglino*

### **Introdução**

A matriz extracelular é componente essencial para a determinação do microambiente tumoral e sua modulação não apenas influencia e altera os fenótipos das células que aí residem quanto pode afetar a eficácia dos tratamentos instituídos (Correia & Bissell, 2012; Veiseh et al, 2014). Importantes avanços foram conquistados no entendimento do fenótipo e do genótipo das células tumorais; entretanto, poucos esforços foram destinados à análise e caracterização de sua porção estromal, ou seja, de sua matriz extracelular (Boudreau et al, 2012). Em alguns tumores, tem-se demonstrado que componentes da matriz extracelular favorecem a sobrevivência de células tumorais, através do estímulo da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS – *reactive oxygen species*) (Edderkaoui et al, 2005). Estas são geradas intracelularmente tanto pela ação catalítica de enzimas durante o processo de transferência de elétrons no metabolismo celular quanto por fatores exógenos (como proteínas ligantes da matriz extracelular) que permitem interação e ativação direta de receptores específicos da membrana celular (Sauer et al, 2001). Espécies reativas de oxigênio funcionam como mensageiros secundários em cascatas de sinalização, tais como de proliferação e diferenciação celular. A literatura é escassa em informações sobre eventuais alterações da matriz extracelular e a presença de ROS intracelular após tratamentos de imunoterapia e hipertermia em câncer, o que justifica a realização deste estudo.

### **Objetivo Geral**

Avaliar a matriz extracelular e espécies reativas de oxigênio no microambiente tumoral em modelo murinho de osteosarcomas. Além disso, utilizar uma nova ferramenta para a reconstrução de tecidos acometidos por tumores mediante scaffolds biológicos vascularizados provenientes de placentas descelularizadas.

## Metas

1. Avaliar as modificações constitucionais da matriz extracelular ao longo dos diferentes estágios de evolução da doença, assim como após os diferentes tratamentos *in vivo*;
2. Analisar a correlação da composição da matriz com os fenótipos de células isoladas dos tumores, com e sem tratamento;
3. Determinar os níveis intracelulares de ROS, por citometria de fluxo, de células isoladas de tumores em seus diferentes estágios de evolução, com e sem tratamentos;
4. Padronizar a obtenção de um biomaterial biológico a partir da decelularização de placentas, tecido que é comumente descartado após o nascimento;
5. Realizar a recelularização do biomaterial biológico acelular derivado de placenta, com células de saco vitelino e de medula óssea e avaliação de sua diferenciação osteogênica;
6. Avaliar o comportamento *in vivo*, em modelos murinos, da regeneração óssea a partir do biomaterial acelular e células acima descritos.

## Cronograma de execução referente a seis anos de projeto

Metas	Semestres											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	■	■	■									
2			■	■	■	■						
3				■	■	■						
4					■	■	■	■				
5							■	■	■	■		
6									■	■	■	■

## Pesquisadores:

Carla M. F. de Carvalho Miranda

Paula Fratini

Sonja Ellen Lobo

Luciano César P. C. Leonel

Paulo César Maiorka