



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E DO
DESENVOLVIMENTO

Leili Daiane Hausmann

**Análise de alterações transcricionais e variantes genéticas relacionadas às citocinas no
câncer de mama**

Florianópolis
2021

Leili Daiane Hausmann

**Análise de alterações transcricionais e variantes genéticas relacionadas às citocinas no
câncer de mama**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Biologia Celular e do Desenvolvimento da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de
doutora em Biologia Celular e do Desenvolvimento.
Orientadora: Prof^a. Yara Costa Netto Muniz, Dr^a.
Coorientador: Prof. Guilherme de Toledo e Silva, Dr.

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Hausmann, Leili Daiane

Análise de alterações transcricionais e variantes genéticas relacionadas às citocinas no câncer de mama / Leili Daiane Hausmann ; orientadora, Yara Costa Netto Muniz, coorientador, Guilherme de Toledo e Silva, 2021. 173 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Biologia Celular e do Desenvolvimento. 2. Genética. 3. Biologia molecular. 4. Câncer de mama. I. Muniz, Yara Costa Netto. II. e Silva, Guilherme de Toledo . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento. IV. Título.

Leili Daiane Hausmann

**Análise de alterações transcricionais e variantes genéticas relacionadas às citocinas no
câncer de mama**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Ticiania Della Justina Farias, Dr^a.

University of Colorado, UC, Estados Unidos

Prof^a. Talita da Silva Jeremias, Dr^a.

Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Luiza Guimarães de Oliveira, Dr^a.

Universidade de São Paulo

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado
adequado para obtenção do título de doutora em Biologia Celular e do Desenvolvimento.

Prof^a. Evelise Maria Nazari, Dr^a.

Coordenadora do Programa

Prof^a. Yara Costa Netto Muniz, Dr^a.

Orientadora

Florianópolis, 2021.

AGRADECIMENTOS

Minha imensa gratidão a todos que de alguma forma contribuíram para a realização do presente trabalho.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) onde realizei meu curso de graduação em Ciências Biológicas, mestrado e doutorado em Biologia Celular e do Desenvolvimento. Aos professores que me inspiraram durante essa jornada. Ao Centro de Ciências Biológicas (CCB) e ao Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética (BEG), local onde atualmente atuo como servidora técnica administrativa em educação. Ao corpo docente da Pós-Graduação por todo conhecimento passado.

Aos órgãos de fomento, CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão de bolsa no início do doutorado, FAPESC (Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelos financiamentos dos projetos de pesquisa desenvolvidos no LAPOGE (Laboratório de Polimorfismos Genéticos).

À minha orientadora, Dr^a. Yara Costa Netto Muniz por todas as contribuições. Por ser meu exemplo de mulher e de professora. Por ser uma grande amiga. Por toda a paciência, empatia e confiança depositada em mim. Obrigada por ter acreditado no meu potencial, quando eu já tinha desistido. Obrigada por esses 9 anos de convivência, pelas reuniões onde facilmente perdíamos o foco, pelas risadas e por ter chorado comigo quando eu precisei chorar. Por todo o amadurecimento profissional e pessoal que você me proporcionou. Talvez eu não seja a cientista que você idealizou, mas se eu puder ser um pouco da incrível professora que és será “top master da balada!!”.

Ao meu coorientador Dr. Guilherme de Toledo e Silva. Por ter aceitado me coorientar, por me proporcionar novos conhecimentos, por dividir suas experiências, angústias e alegrias de forma leve. Por estar sempre disponível para ajudar. Por me incluir no seu grupo incrível de pesquisa. Por ser um professor e pesquisador que entende a importância da saúde mental, do convívio harmonioso e por priorizar nosso bem estar.

Às mulheres participantes do estudo que, além de contribuírem com a realização da pesquisa, tornaram-se uma inspiração para a vida.

Aos indivíduos e instituições envolvidos na pesquisa. Aos funcionários do Hospital Universitário, principalmente aos médicos, Braulio Leal Fernandes e Renato Salermo Wilkens, pelo auxílio no contato com as mulheres com câncer de mama e pela dedicação para que estas aceitassem participar do estudo. Aos pesquisadores que proporcionaram a disponibilização de

informações clínicas e moleculares de diversos pacientes com câncer de mama em bancos de dados públicos.

À banca avaliadora da tese, Dr^a. Ticiania Della Justina Farias, Dr^a. Talita da Silva Jeremias e Dr^a. Maria Luiza Guimarães de Oliveira que gentilmente aceitaram o convite e prontamente se dispuseram a avaliar e contribuir com esse trabalho. À Dr^a. Juliana Dal-Ri Lindenau e à Dr^a. Norma Machado da Silva por comporem a banca de qualificação, pelas ricas sugestões e críticas, que permitiram que parte do trabalho fosse aprimorada.

Ao LAPOGE e toda sua equipe. Foram 12 anos de muitas alegrias, aprendizados e desafios. Em especial para a fundadora do laboratório, a professora Dr^a. Ilíada Rainha de Souza, por me aceitar em 2009 como aluna de iniciação científica, por confiar no meu potencial e por ser uma pessoa especial na minha vida, que me ajudou e me inspira todos os dias. Aos colegas do LAPOGE por auxiliarem de alguma forma na elaboração do trabalho com o ensino das técnicas, coletas de amostras, extrações de DNA e por contribuírem para minha formação profissional e pessoal. Às queridas Clisten e Mari (amigas de doutorado e de vida) por todo o carinho de sempre, por sempre estarem disponíveis para ajudar quem precisa, por pensarem no bem coletivo e pela amizade que eu levo para sempre e para fora da universidade. À Bibiana, à Cíntia, à Mariáh e à Ticiania por todos os ensinamentos durante meus anos no LAPOGE. Obrigada por serem pacientes e compartilharem o conhecimento de vocês. Às professoras Juliana Dal-Ri Lindenau, à Andrea Marrero e à Sara Lofgren por todas as contribuições. À Patrícia, à Malu, à Sandra, à Alice, à Gabriela e aos colegas que contribuíram para a realização deste e de outros trabalhos.

Ao LAGEN e toda sua equipe pelo acolhimento e disposição em me ajudar com as aventuras na bioinformática. Em especial à Fernanda que sempre esteve disponível em ajudar e contribuir para a realização do trabalho.

Aos técnicos do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) da UFSC pela disponibilidade e auxílio durante as técnicas realizadas nas dependências do laboratório. Aos colegas de trabalho da UFSC, servidores técnicos e professores pela convivência harmoniosa e de troca de experiências.

A todos os professores que eu tive durante a vida, em especial ao professor Lourival de biologia do ensino médio que me mostrou como a genética é espetacular.

Aos amigos. Vocês são incríveis e fundamentais na minha vida.

Aos meus pais, Marlene e Wilmar, pelo amor e dedicação imensuráveis, pelo esforço e apoio para que eu sempre pudesse me dedicar aos estudos. Ao David pelo amor e amizade. Ao Diogo por todo amor, parceria e paciência. A toda família pelo enorme carinho.

RESUMO

O câncer de mama (CM) é o segundo tipo de câncer mais frequente no mundo e o mais frequente entre as mulheres. É considerada uma doença multifatorial que resulta de interações entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais. O sistema imune desempenha um papel fundamental e complexo na biologia do CM. O crescimento de células cancerosas é determinado, em grande parte, por sua capacidade de proliferar e invadir tecidos do hospedeiro. A resistência ao ataque da resposta imune e a presença de inflamação pró tumoral são duas das principais características do câncer. Nesse contexto, as citocinas medeiam muitas interações entre células imunes e não imunes no microambiente tumoral. Análises de expressão gênica diferencial, estudos de redes gênicas e investigação de variantes genéticas são ferramentas poderosas para identificar genes relacionados às citocinas e seus receptores que podem estar associados ao desenvolvimento, progressão e manutenção do CM. Duas análises foram realizadas. A primeira análise buscou *in silico* assinaturas moleculares de expressão gênica para distinguir tecido tumoral do tecido adjacente não tumoral de mama, através de amostras de expressão gênica disponíveis em bancos de dados públicos obtidas a partir de RNA-seq. Módulos de coexpressão foram estabelecidos com o auxílio do pacote WGCNA no ambiente R. O enriquecimento funcional de termos do GO e vias do KEGG também foi realizado. O estudo identificou 2.020 transcritos diferencialmente expressos. As vias do KEGG enriquecidas relacionadas às citocinas foram a de interação citocina e receptor de citocina e via de sinalização da IL-17. Ambas as vias desempenham papéis cruciais nas respostas imunológicas. Destacam-se os transcritos que foram considerados como bons marcadores para o tecido tumoral na interação citocina e receptor de citocina: ACVR1C, BMP2, BMP3, BMP8A, CCL11, CCL14, CCL16, CCL21, CCR8, CNTFR, CSF3, CXCL2, CXCL9, CXCL10, CXCL11, GDF10, GHR, IL-6, IL-9R, IL-17D, IL-19, IL-20, IL-21R, IL-33, INHBA, LEP, LEPR, LIFR, PPBP, TNFRSF9, TNFRSF18, TNFSF4 e TSLP. Na via de sinalização da IL-17 destacam-se os transcritos CCL11, CXCL10, MMP1, MMP3, MMP9 e MMP13. Os achados das análises *in silico* podem ser alvos de verificação experimental. Na segunda análise variantes dos genes *TNFRSF1A* (rs1800693) e *IFNLRI* (rs4649203) foram avaliadas em um estudo caso-controle com 243 pacientes com CM e 294 mulheres sem histórico da doença por meio de ensaios de genotipagem TaqMan® SNP por qPCR. Para *IFNLRI*, o genótipo AA ($p=0,008$; OR=0,38) e o alelo A ($p=0,02$; OR=0,71) foram significativamente associados a um menor risco de desenvolver CM. Ao analisar a idade, observou-se que cada ano a mais contribui para o desenvolvimento do CM ($p<0,001$; OR=1,03). Além disso, o hábito de fumar ($p<0,001$; OR=5,32) e o índice de massa corporal ($p=0,018$; OR=1,04) aumentam o risco de desenvolvimento da doença. Analisando o fator receptor de progesterona, foi encontrada associação com o genótipo AA do *IFNLRI* ($p=0,02$; OR=0,23). Os resultados sugerem que o polimorfismo no gene *IFNLRI* contribui para a suscetibilidade ao CM em uma população brasileira. Essas descobertas podem contribuir para o melhor entendimento do papel de genes relacionados às citocinas e seus receptores no desenvolvimento do CM.

Palavras-chave: Citocinas. Transcriptoma. Coexpressão. *IFNLRI*. IL-17.

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is the second most common type of cancer globally and the most frequent among women. It is considered a multifactorial disease resulting from genetic, immunological and environmental. The immune system plays a fundamental and complex role in BC biology. The growth of cancer cells is primarily determined by their ability to proliferate and invade host tissues. Resistance to immune attack and the presence of pro-tumor inflammation are two of the main characteristics of cancer. In this context, cytokines mediate many interactions between immune and non-immune cells in the tumor microenvironment. Differential gene expression analysis, gene network studies, and genetic variants investigation are powerful tools to identify genes related to cytokines and their receptors, which may be associated with BC's development, progression, and maintenance. We performed two main analyzes. The first analysis employed publicly available RNA-seq samples to search molecular gene expression signatures distinguishing tumor tissue from adjacent normal breast tissue. Then, we established coexpression modules using WGCNA and functional enrichment of GO terms and KEGG pathways. We have found 2,020 differentially expressed transcripts. Cytokine-related enriched KEGG pathways were: cytokine and cytokine receptor interaction and IL-17 signaling pathway, both of them with pivotal roles in immune responses. The following transcripts were considered good markers for tumor tissue in the cytokine and cytokine receptor interaction: ACVR1C, BMP2, BMP3, BMP8A, CCL11, CCL14, CCL16, CCL21, CCR8, CNTFR, CSF3, CXCL2, CXCL9, CXCL10, CXCL11, GDF10, GHR, IL-6, IL-9R, IL-17D, IL-19, IL-20, IL-21R, IL-33, INHBA, LEP, LEPR, LIFR, PPBP, TNFRSF9, TNFRSF18, TNFSF4, and TSLP. In the IL-17 signaling pathway, the CCL11, CXCL10, MMP1, MMP3, MMP9, and MMP13 transcripts stand out. Findings from *in silico* analyzes may be targets of functional validation. In the second analysis, we evaluated the *TNFRSF1A* (rs1800693) and *IFNLRI* (rs4649203) association in a case-control study with 243 BC patients and 294 women with no history of disease using TaqMan® Assay qPCR. For *IFNLRI*, the AA genotype ($p=0,008$; OR=0,38) and the A allele ($p=0,02$; OR=0,71) are significantly associated with a lower risk of developing BC. Concerning age, we found that each additional year contributes to the BC development ($p<0,001$; OR=1,03). In addition, smoking ($p<0,001$; OR=5,32) and body mass index ($p=0,018$; OR=1,04) increase the risk of developing the disease. For the progesterone receptor factor, we found an association with the *IFNLRI* AA genotype ($p=0,02$; OR=0,23). The results suggest that the *IFNLRI* SNP contributes to BC susceptibility in the Brazilian population. These findings may provide a better understanding of the role of genes related to cytokines and their receptors in the development of BC.

Keywords: Cytokines. Transcriptome. Coexpression. *IFNLRI*. IL-17.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Representação esquemática da composição de uma mama normal com vista frontal e lateral.24
- Figura 2 – Genes diferencialmente expressos. (a) *Volcano plot* da análise de expressão diferencial dos transcritos em tecido tumoral com relação ao tecido adjacente não tumoral. Em vermelho, os transcritos mais expressos (*upregulated*). Em azul, transcritos menos expressos (*downregulated*). A linha tracejada horizontal representa o corte em 1 no eixo do $\log_{10}(\text{FDR})$. As linhas tracejadas verticais representam os cortes no eixo do $\log_2\text{FoldChange}$ em -2 e 2. (b) Gráfico apresentando a quantidade de genes diferencialmente expressos, *upregulated* e *downregulated*, no tecido tumoral em comparação com o tecido adjacente não tumoral.....42
- Figura 3 - Análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) da análise de expressão diferencial do RNA em tecido tumoral e tecido adjacente não tumoral.43
- Figura 4 - Análise da topologia da rede para vários poderes de limite suave da análise de coexpressão I. O painel esquerdo mostra o índice de ajuste sem escala (eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x). O painel direito exibe a conectividade média (grau, eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x).....44
- Figura 5 - Rede de coexpressão gênica em 112 pares de amostras de tecido tumoral e de tecido adjacente não tumoral de mama gerada pelo WGCNA (análise I). A conectividade dos 19.559 transcritos considerados na análise foi utilizada como medida de distância para a construção do dendrograma. O algoritmo *dynamicTOM overlap* foi usado para fazer o agrupamento dos transcritos em módulos da rede. Na barra horizontal, transcritos com a mesma cor se encontram no mesmo módulo. Foram anotados 49 módulos no total.45
- Figura 6 - Análise de *cluster* das amostras de tecido tumoral e de tecido adjacente não tumoral de pacientes com câncer de mama. Os 2.020 genes diferencialmente expressos foram usados para a análise por WGCNA e *flashClust*. As amostras foram divididas em dois *clusters* principais, *cluster 1* (rosa claro) e *cluster 2* (azul claro). Um *sub-cluster* de amostras de tecido tumoral foi identificado dentro do *cluster 1* (rosa mais escuro).....48
- Figura 7 - Análise da topologia da rede para vários poderes de limite suave da análise II. O painel esquerdo mostra o índice de ajuste sem escala (eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x). O painel direito exibe a conectividade média (grau, eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x).....49

Figura 8 - Rede de coexpressão gênica em 112 pares de amostras de tecido tumoral e de tecido adjacente não tumoral de mama gerada pelo WGCNA (análise II). A conectividade dos 2.020 transcritos considerados na análise foi utilizada como medida de distância para a construção do dendrograma. O algoritmo <i>dynamicTOM overlap</i> foi usado para fazer o agrupamento dos transcritos em módulos da rede. Na barra horizontal, transcritos com a mesma cor se encontram no mesmo módulo. Foram anotados 5 módulos no total.	50
Figura 9 – Diagrama de Venn com os genes enriquecidos no KEGG na via de sinalização IL-17 de dois grupos: GDE e módulo <i>Turquoise</i> da análise II. Os dois conjuntos mostram uma sobreposição de 14 genes enriquecidos.	53
Figura 10 – Diagrama de Venn com os genes enriquecidos no KEGG em na via de interação citocina e receptor da citocina de três grupos: GDE, módulo <i>Turquoise</i> da análise I e módulo <i>Black</i> da análise I. Os três conjuntos não mostram uma sobreposição de genes enriquecidos. Entre os grupos GDE e módulo <i>Turquoise</i> da análise I ocorreu uma sobreposição de 21 genes enriquecidos e entre os grupos GDE e módulo <i>Black</i> da análise I ocorreu uma sobreposição de 3 genes enriquecidos.	54
Figura 11 – Diagrama de Venn com os genes enriquecidos na análise KEGG em via de interação citocina e receptor da citocina de três grupos: GDE, módulo <i>Turquoise</i> da análise II e módulo <i>Blue</i> da análise II. Os três conjuntos não mostram uma sobreposição de genes enriquecidos. Entre os grupos GDE e módulo <i>Turquoise</i> da análise II ocorreu uma sobreposição de 26 genes enriquecidos e entre os grupos GDE e módulo <i>Blue</i> da análise II ocorreu uma sobreposição de 19 genes enriquecidos.	55
Figura 12 - Identificação de genes <i>hub</i> da via de sinalização da IL-17. (a) Análise de rede PPI. 14 <i>nodes</i> (nós - proteínas) e 27 <i>edges</i> (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. Cores distribuídas aleatoriamente. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes <i>hub</i> candidatos com base no algoritmo MCC. Genes coloridos em vermelho possuem uma maior importância na rede de interação e genes coloridos em amarelo uma menor importância na rede de interação.	56
Figura 13 - Identificação de genes <i>hub</i> da via de interação citocina e receptor de citocina (comparação entre GDE e módulo <i>Turquoise</i> na análise I). (a) Análise de rede PPI. 21 <i>nodes</i> (nós - proteínas) e 64 <i>edges</i> (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes <i>hub</i> candidatos com base no algoritmo MCC.	57
Figura 14 - Identificação de genes <i>hub</i> da via de interação citocina e receptor de citocina (comparação entre GDE e módulo <i>Turquoise</i> na análise II). (a) Análise de rede PPI. 26 <i>nodes</i>	

(nós - proteínas) e 72 <i>edges</i> (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes <i>hub</i> candidatos com base no algoritmo MCC.....	58
Figura 15 - Identificação de genes <i>hub</i> da via de interação citocina e receptor de citocina (comparação entre GDE e módulo <i>Blue</i> na análise II). (a) Análise de rede PPI. 19 <i>nodes</i> (nós - proteínas) e 47 <i>edges</i> (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes <i>hub</i> candidatos com base no algoritmo MCC.	59
Figura 16 – Curva ROC de 2 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>CCL11</i> . (b) Curva ROC do gene <i>CXCL10</i>	60
Figura 17 – Curva ROC de 2 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>MMP1</i> . (b) Curva ROC do gene <i>MMP3</i>	60
Figura 18 – Curva ROC de 2 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>MMP9</i> . (b) Curva ROC do gene <i>MMP13</i>	61
Figura 19 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>ACVRI1</i> . (b) Curva ROC do gene <i>BMP2</i> . (c) Curva ROC do gene <i>BMP3</i> . (d) Curva ROC do gene <i>BMP8A</i>	62
Figura 20 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>CCL11</i> . (b) Curva ROC do gene <i>CCL14</i> . (c) Curva ROC do gene <i>CCL16</i> . (d) Curva ROC do gene <i>CCL21</i>	63
Figura 21 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos	

negativos). (a) Curva ROC do gene <i>CCR8</i> . (b) Curva ROC do gene <i>CNTFR</i> . (c) Curva ROC do gene <i>CSF3</i> . (d) Curva ROC do gene <i>CXCL2</i>	64
Figura 22 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>CXCL9</i> . (b) Curva ROC do gene <i>CXCL10</i> . (c) Curva ROC do gene <i>CXCL11</i> . (d) Curva ROC do gene <i>TSLP</i>	65
Figura 23 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>GDF10</i> . (b) Curva ROC do gene <i>GHR</i> . (c) Curva ROC do gene <i>IL6</i> . (d) Curva ROC do gene <i>IL9R</i>	66
Figura 24 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>IL17D</i> . (b) Curva ROC do gene <i>IL19</i> . (c) Curva ROC do gene <i>IL20</i> . (d) Curva ROC do gene <i>IL21R</i>	67
Figura 25 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>IL33</i> . (b) Curva ROC do gene <i>INHBA</i> . (c) Curva ROC do gene <i>LEP</i> . (d) Curva ROC do gene <i>LEPR</i>	68
Figura 26 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene <i>LIFR</i> . (b) Curva ROC do gene <i>PPBP</i> . (c) Curva ROC do gene <i>TNFRSF9</i> . (d) Curva ROC do gene <i>TNFRSF18</i>	69
Figura 27 – Curva ROC do gene <i>TNFSF4</i> enriquecido na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x a especificidade (fração dos falsos negativos).	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características clínicas e epidemiológicas das pacientes com câncer de mama selecionadas.....	41
Tabela 2 - Análise de enriquecimento do KEGG de genes diferencialmente expressos.....	43
Tabela 3 - Análise de enriquecimento do KEGG dos módulos <i>Black</i> e <i>Turquoise</i> gerados na análise de coexpressão gênica I.....	46
Tabela 4 - Enriquecimento do GO (funções moleculares) de genes no módulo <i>Darkgreen</i> da análise de coexpressão I.....	47
Tabela 5 - Análise de enriquecimento do KEGG de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão II.....	51
Tabela 6 - Distribuição de genótipos e alelos dos polimorfismos dos genes <i>TNFRSF1A</i> e <i>IFNLRI</i> em casos e controles e regressão logística.....	89
Tabela 7 - Associações entre as variantes dos genes <i>TNFRSF1A</i> e <i>IFNLRI</i> (genótipos e alelos) e o <i>status</i> do receptor de progesterona em pacientes com câncer de mama.....	90

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Interleucinas investigadas no contexto tumoral e suas respectivas famílias.29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT1	do inglês <i>adaptor protein CIKS</i>
ACVR1C	do inglês <i>activin A receptor type 1C</i>
AUC	Área Abaixo da Curva, do inglês <i>Area Under the Curve</i>
BEG	Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética
BMP2	do inglês <i>bone morphogenetic protein 2</i>
BMP3	do inglês <i>bone morphogenetic protein 3</i>
BMP8A	do inglês <i>bone morphogenetic protein 8a</i>
BMPR1B	do inglês <i>bone morphogenetic protein receptor type 1B</i>
BRCA1	Câncer de mama 1 início precoce, do inglês <i>Breast cancer 1, early onset</i>
BRCA2	Câncer de mama 2 início precoce, do inglês <i>Breast cancer 2, early onset</i>
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CCL2	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 2</i>
CCL5	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 5</i>
CCL7	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 7</i>
CCL11	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 11</i>
CCL14	do inglês <i>C-C motif chemokine 14</i>
CCL15	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 15</i>
CCL16	do inglês <i>C-C motif chemokine 16</i>
CCL19	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 19</i>
CCL20	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 20</i>
CCL21	do inglês <i>C-C motif chemokine ligand 21</i>
CCR5	do inglês <i>C-C motif chemokine receptor 5</i>
CCR7	do inglês <i>C-C motif chemokine receptor 7</i>
CCR8	do inglês <i>C-C motif chemokine receptor 8</i>
CDH1	do inglês <i>cadherin 1, type 1</i>
Células Th17	Células T CD4+ <i>helper</i> 17
CEPSH-UFSC	Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina

CM	Câncer de mama
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
<i>CNTFR</i>	do inglês <i>ciliary neurotrophic factor receptor</i>
CRAN	do inglês <i>Comprehensive R Archive Network</i>
<i>CSF3</i>	do inglês <i>colony stimulating factor 3</i>
<i>CXCL2</i>	do inglês <i>C-X-C motif chemokine ligand 2</i>
<i>CXCL9</i>	do inglês <i>C-X-C motif chemokine ligand 9</i>
<i>CXCL10</i>	do inglês <i>C-X-C motif chemokine ligand 10</i>
<i>CXCL11</i>	do inglês <i>C-X-C motif chemokine ligand 11</i>
<i>CXCL14</i>	do inglês <i>C-X-C motif chemokine ligand 14</i>
CXCR4	do inglês <i>C-X-C chemokine receptor type 4</i>
C-erbB-2	Receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano
DNA	Ácido desoxirribonucleico, do inglês <i>desoxyribonucleic acid</i>
<i>EPO</i>	do inglês <i>eosinophil peroxidase</i>
et al.	“e outros”, do latim et alii
EWH	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
FAPESC	Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina
FDR	Taxas de falsos positivos do inglês <i>False Discovery Rate</i>
GDE	Genes diferencialmente expressos
<i>GDF10</i>	do inglês <i>growth differentiation factor 10</i>
<i>GDF15</i>	do inglês <i>growth differentiation factor 15</i>
<i>GHR</i>	do inglês <i>growth hormone receptor</i>
GM-CSF	do inglês <i>Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i>
GO	do inglês <i>Gene Ontology</i>
G-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos, do inglês <i>granulocyte colony-stimulating-factor</i>
HU-UFSC	Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago, da Universidade Federal de Santa Catarina
IC	Intervalo de confiança
ICGC	do inglês <i>International Cancer Genome Consortium</i>
IFNLR1	Receptor 1 do interferon lambda (INF-λ), do inglês <i>Interferon Lambda Receptor 1</i>
IFN	Interferons

IL-28RA	Receptor da interleucina 28, subunidade alfa do inglês <i>Interleukin 28 receptor, alpha subunit</i>
IL	Interleucinas
IMC	Índice de massa corpórea
INCA	Instituto Nacional de Câncer
<i>INHA</i>	do inglês <i>inhibin subunit alpha</i>
<i>INHBA</i>	do inglês <i>inhibin subunit beta A</i>
JAK-STAT	do inglês <i>Janus kinases/signal transducer and activator of transcription proteins</i>
KEGG	Enciclopédia de Genes e Genomas de Quioto, do inglês <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
LAGEN	Laboratório de genômica
LAPOGE	Laboratório de Polimorfismos Genéticos
LAMEB	Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia
<i>LEP</i>	do inglês <i>leptina</i>
<i>LEPR</i>	do inglês <i>leptin receptor</i>
<i>LIFR</i>	do inglês <i>LIF receptor subunit alpha</i>
MAPK	do inglês <i>mitogen-activated protein kinase</i>
<i>MAPK15</i>	do inglês <i>mitogen-activated protein kinase 15</i>
MCC	do inglês <i>Maximal Clique Centrality</i>
miRNA	microRNA
<i>MMP1</i>	do inglês <i>matrix metalloproteinase 1</i>
<i>MMP3</i>	do inglês <i>matrix metalloproteinase 3</i>
<i>MMP9</i>	do inglês <i>matrix metalloproteinase 9</i>
<i>MMP13</i>	do inglês <i>matrix metalloproteinase 13</i>
mRNA	RNA mensageiro
<i>MUC5B</i>	do inglês <i>mucin-5B</i>
n	Número amostral
NF-κB	do inglês <i>nuclear factor kappa B</i>
NK	do inglês <i>natural killers</i>
NRF2	do inglês <i>nuclear factor erythroid-derived 2-like 2</i>
OR	Razão de Chances, do inglês <i>Odds Ratio</i>

p	Probabilidade
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês <i>Principal Component Analysis</i>
PF4	do inglês <i>platelet factor 4</i>
PPBP	do inglês <i>pro-platelet basic protein</i>
PPI	interação proteína-proteína, do inglês <i>Protein-Protein Interaction</i>
PTEN	do inglês <i>phosphatase and tensin homolog</i>
RE	Receptor de estrogênio
RNA	Ácido ribonucleico, do inglês <i>Ribonucleic acid</i>
RNA-seq	Sequenciamento de RNA
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RPG	Receptor de progesterona
S100A7A	do inglês <i>S100 calcium binding protein A7A</i>
S100A8	do inglês <i>S100 calcium binding protein A</i>
S100A9	do inglês <i>S100 calcium binding protein A9</i>
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único, do inglês <i>Single-Nucleotide Polymorphism</i>
STAT	Transdutores de sinal e ativadores da transcrição, do inglês, <i>signal transducers and activators of transcription</i>
STRING	do inglês <i>Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes</i>
TCGA	Atlas do Genoma do Câncer, do inglês <i>The Cancer Genome Atlas</i>
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta, do inglês <i>Transforming growth factor beta</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa, do inglês <i>Tumor necrosis factor alpha</i>
TNFR1	Receptor do Fator de Necrose Tumoral 1, do inglês <i>Tumor necrosis factor receptor 1</i>
TNFRSF1A	Receptor de Fator de Necrose Tumoral Membro Superfamília 1A, do inglês <i>Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 1A</i>
TNFRSF9	do inglês <i>TNF receptor superfamily member 9</i>
TNFRSF18	do inglês <i>TNF receptor superfamily member 18</i>
TNFSF4	do inglês <i>TNF superfamily member 4</i>
TNM	Classificação de Tumores Malignos, do inglês <i>Classification of Malignant Tumours</i>

TOM	Matriz de sobreposição topológica, do inglês <i>Topological overlap matrix</i>
TP53	do inglês <i>tumor protein p53</i>
TRAF6	do inglês <i>TNF receptor-associated factor 6</i>
TRH	Terapia de reposição hormonal
TSLP	do inglês <i>thymic stromal lymphopoietin</i>
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular, do inglês <i>Vascular endothelial growth factor</i>
WGCNA	Análise de rede de correlação ponderada, do inglês <i>Weighted Correlation Network Analysis</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	23
1.1	CÂNCER DE MAMA.....	23
1.1.1	Fatores de risco envolvidos no desenvolvimento do câncer de mama	24
1.1.2	Genética e resposta imune do câncer de mama	26
1.1.3	Citocinas e câncer	27
1.2	JUSTIFICATIVA	32
1.3	HIPÓTESES E ESTRUTURA DO TRABALHO.....	33
1.4	OBJETIVOS	33
1.4.1	Objetivo Geral.....	33
1.4.2	Objetivos Específicos	33
2	CAPÍTULO I - TRANSCRIPTOMA COMPARATIVO E REDES DE COEXPRESSÃO EM TECIDOS TUMORAIS E NORMAIS ADJACENTES EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA	35
2.1	INTRODUÇÃO	35
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
2.2.1	Amostras e análises dos dados do TCGA	36
2.2.2	Identificação e anotação dos genes diferencialmente expressos.....	36
2.2.3	Análise de redes de coexpressão gênica	38
2.2.4	Análises de enriquecimento funcional	39
2.2.5	Investigação integrada de genes relacionados às citocinas que foram enriquecidos nas análises anteriores	39
2.3	RESULTADOS	40
2.3.1	Identificação dos genes diferencialmente expressos	41
2.3.2	Análise de enriquecimento funcional dos genes diferencialmente expressos .	43
2.3.3	Análise I: identificação de redes de coexpressão gênica utilizando todos os transcritos disponíveis.....	44
2.3.4	Análise I: enriquecimento funcional das redes de coexpressão construídas utilizando todos os transcritos disponíveis	45
2.3.5	Análise II: identificação de redes de coexpressão gênica utilizando apenas os genes diferencialmente expressos	48
2.3.6	Análise II: enriquecimento funcional das redes de coexpressão construídas utilizando os genes diferencialmente expressos	50

2.3.7	Investigação integrada de genes relacionados às citocinas que foram enriquecidos nas análises anteriores	52
2.4	DISCUSSÃO	71
2.5	CONCLUSÕES	82
3	CAPÍTULO II - ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES <i>TNFRSF1A</i> E <i>IFNLRI</i> COM O RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DE MAMA E CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS	83
3.1	INTRODUÇÃO	83
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS	86
3.2.1	Pacientes e controles	86
3.2.2	Genotipagem de variantes.....	86
3.2.3	Análise estatística.....	86
3.3	RESULTADOS	87
3.3.1	Características epidemiológicas e frequências genotípicas e alélicas.....	87
3.3.2	Associações entre dados epidemiológicos e desenvolvimento de câncer de mama	88
3.3.3	Polimorfismos dos genes <i>TNFRSF1A</i> e <i>IFNLRI</i> e câncer de mama	88
3.3.4	Associações entre os polimorfismos <i>TNFRSF1A</i> e <i>IFNLRI</i> e características clínicas dos pacientes	89
3.4	DISCUSSÃO	90
3.5	CONCLUSÕES	94
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
	REFERÊNCIAS	97
	APÊNDICE A – GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS	117
	APÊNDICE B – ANÁLISE DE ENRIQUECIMENTO DO GO DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS	141
	APÊNDICE C – QUANTIDADE DE GENES ENRIQUECIDOS NOS 49 MÓDULOS DA ANÁLISE DE COEXPRESSÃO GÊNICA UTILIZANDO TODOS OS TRANSCRITOS DISPONÍVEIS	142
	APÊNDICE D – ANÁLISE DE ENRIQUECIMENTO DO KEGG DAS REDES DE COEXPRESSÃO GÊNICA (USANDO TODOS OS TRANSCRITOS)	143

APÊNDICE E – ANÁLISE DE ENRIQUECIMENTO DO GO COM GENES NOS MÓDULOS GERADOS PELA ANÁLISE DE COEXPRESSÃO I....	146
APÊNDICE F – ANÁLISE DE ENRIQUECIMENTO DO GO COM GENES NOS MÓDULOS GERADOS PELA ANÁLISE DE COEXPRESSÃO II ..	152
APÊNDICE G – ANÁLISE DE CURVAS ROC	156
APÊNDICE H – ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE OS GENÓTIPOS E A SUSCETIBILIDADE AO CÂNCER DE MAMA UTILIZANDO MODELOS GENÉTICOS.....	161
APÊNDICE I – ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIANTES DOS GENES <i>TNFRSF1A</i> E <i>IFNLRI</i> (GENÓTIPOS E ALELOS) E OS FATORES CLÍNICOS EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA	162
ANEXO A – QUESTIONÁRIO INDIVÍDUOS-CONTROLES	164
ANEXO B – QUESTIONÁRIO DE INDIVÍDUOS COM CÂNCER DE MAMA.....	167
ANEXO C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) INDIVÍDUOS-CONTROLES.....	170
ANEXO D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) INDIVÍDUOS COM CÂNCER DE MAMA	172

1 INTRODUÇÃO GERAL

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que têm em comum a proliferação descontrolada de células e a capacidade de invadir tecidos adjacentes (NATIONAL CANCER INSTITUTE - NCI, 2021). As células cancerosas possuem a capacidade de reproduzir-se sem obedecer aos limites normais de divisão celular e de invadir e colonizar áreas destinadas a outras células, formando tumores (HANAHAN; WEINBERG, 2000). Uma vez que estes tumores crescem, devido à proliferação celular, algumas células cancerosas podem se desprender e se deslocar no corpo através dos sistemas circulatório e linfático, formando novos tumores longe do tumor primário, o que caracteriza o processo de metástase (NCI, 2021).

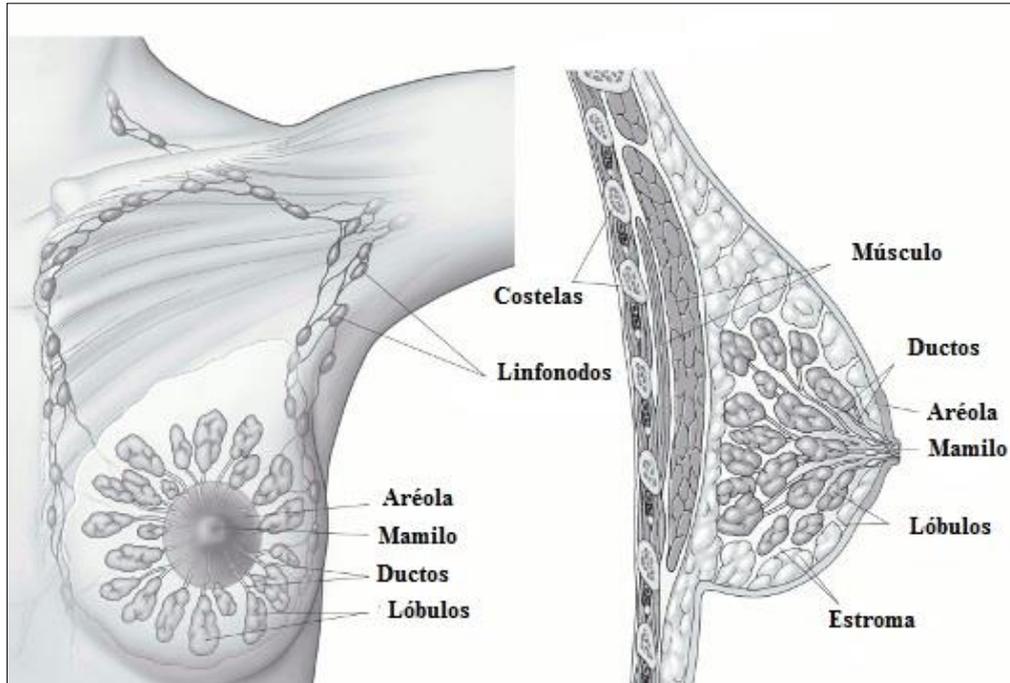
Considerado uma doença de etiologia complexa, o câncer pode apresentar causa multifatorial, ou seja, pode ser atribuído a uma série de fatores externos, como exposição à radiação, agentes químicos e organismos infecciosos, e fatores internos, como mutações e polimorfismos genéticos herdados, níveis hormonais e a condição imunológica do indivíduo (AMERICAN CANCER SOCIETY - ACS, 2021). Além disso, todo câncer também é uma doença resultante do acúmulo de mutações em genes que regulam a divisão celular, sobrevivência, invasão e outras características em células somáticas (CHAKRAVARTY; SOLIT, 2021).

Os dados do projeto Globocan 2020, da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer e da Organização Mundial da Saúde, apontaram a ocorrência de quase 20 milhões de novos casos de câncer e um total de 9,9 milhões de mortes por câncer em todo o mundo, no ano de 2020 (WORD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2020). Nos Estados Unidos da América, houve cerca de 1,8 milhão de diagnósticos e mais de 600 mil mortes por câncer em 2020 (RAHIB et al., 2021). No Brasil, a estimativa aponta para 625 mil novos casos de câncer em 2021. Entre os homens são esperados 309.230 casos, e entre as mulheres, 316.140 novos casos de câncer (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA, 2019).

1.1 CÂNCER DE MAMA

O câncer de mama (CM) se desenvolve no tecido mamário, composto principalmente pelos lóbulos (glândulas produtoras de leite), ductos (pequenos tubos que transportam o leite dos lóbulos ao mamilo) e estroma (tecido adiposo e tecido conjuntivo que envolve os ductos e lóbulos, vasos sanguíneos e linfáticos) (Figura 1).

Figura 1 - Representação esquemática da composição de uma mama normal com vista frontal e lateral.



Fonte: adaptado de ACS, 2021.

O carcinoma ductal invasivo (que se inicia nas células que revestem os ductos) é o tipo mais comum de CM, totalizando, aproximadamente, 80% dos casos. Ao longo do tempo, o carcinoma ductal invasivo pode se espalhar para os linfonodos e, possivelmente, para outras áreas do corpo por metástase. O carcinoma lobular invasivo é o segundo tipo mais comum, cerca de 10% dos CM. Há ainda outros tipos de CM menos comuns, como: carcinoma tubular de mama, carcinoma medular de mama, carcinoma papilar de mama, câncer de mama inflamatório e Doença de Paget, que juntos somam, aproximadamente, 10% dos casos (ACS, 2021; BREASTCANCER.ORG, 2021).

O CM é o primeiro tipo de câncer mais frequente no mundo e o mais frequente entre as mulheres. Dados do projeto Globocan 2020 relataram a ocorrência de 2,2 milhões de novos casos e, aproximadamente, 700 mil mortes no ano de 2020 por CM no mundo (WHO, 2020). Para os Estados Unidos da América, são esperados para 2021 mais de 281 mil casos e mais de 43 mil mortes por CM (ACS, 2021). No Brasil, são esperados para 2021, 66.280 casos novos de CM e para o Estado de Santa Catarina, 3.370 novos casos (INCA, 2019).

1.1.1 Fatores de risco envolvidos no desenvolvimento do câncer de mama

O CM é considerado uma doença multifatorial que resulta de interações entre fatores genéticos, imunológicos, ambientais, comportamentais, hormonais e reprodutivos (INCA,

2019; ZENDEHDEL et al., 2018). Diversos fatores de risco são associados ao desenvolvimento do CM. Além de ser do sexo feminino, o envelhecimento é um dos fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento do CM (ACS, 2021; MOMENIMOVAHED; SALEHINIYA, 2019; SUN et al., 2017; YANG et al., 2011). O risco aumenta se há histórico pessoal ou familiar da doença, especialmente com parentes de primeiro grau afetados, e quanto maior for o número de familiares afetados (ACS, 2021). Dados de um estudo de coorte com mais de 113 mil mulheres no Reino Unido mostram que mulheres com um parente de primeiro grau com CM têm um risco 1,75 vez maior de desenvolver a doença que mulheres sem nenhum parente afetado. O risco torna-se 2,5 vezes ou maior em mulheres com dois ou mais parentes de primeiro grau com CM (BREWER et al., 2017).

Outro fator de risco importante, relacionado ao CM, é a exposição prolongada a elevados níveis dos hormônios estrogênio e progesterona. O principal efeito desses hormônios é estimular a proliferação celular, principalmente em órgãos femininos como o útero, ovários e as mamas (órgãos responsivos a hormônios). Uma maior exposição a esses hormônios acontece em mulheres com: menarca precoce (menor que 12 anos); menopausa tardia (após os 55 anos de idade); nuliparidade; uso prolongado de anticoncepcionais hormonais e uso de terapia de reposição hormonal (TRH) (ACS, 2021; FENG et al., 2018; SAMAVAT; KURZER, 2015). Um estudo de coorte com mais de 108 mil mulheres demonstrou que as que fazem TRH por um período mais longo de tempo têm maior risco de desenvolver CM invasivo do que mulheres que utilizam estes tratamentos por um período mais curto (CANCER, 2019).

Hábitos de vida como o consumo de álcool e tabaco também estão relacionados ao desenvolvimento do CM. O consumo de álcool pode elevar o nível do estrogênio no sangue. Uma meta-análise baseada em 53 estudos epidemiológicos indicou que a ingestão de 35-44 gramas de álcool por dia pode aumentar o risco de CM em 32% (HAMAJIMA et al., 2002; JUNG et al., 2016). A relação da exposição ao tabaco e o desenvolvimento do CM é controversa. Entretanto, tem sido demonstrado que mulheres regularmente expostas ao cigarro, incluindo fumantes passivas, apresentam um aumento no risco de desenvolver CM, em comparação àquelas que nunca se expuseram ao tabaco (CATSBURG; MILLER; ROHAN, 2015; GAUDET et al., 2017; KISPERT; MCHOWAT, 2017).

O sobrepeso e a obesidade são considerados fatores de risco para o desenvolvimento do CM e são definidos como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura, que pode prejudicar a saúde do indivíduo, e que resulta da interação entre estilo de vida e fatores genéticos. O índice de massa corpórea (IMC) é a medida comumente usada para classificar o sobrepeso ($IMC \geq 25$)

e a obesidade ($IMC \geq 30$) em adultos (“*Body mass index - BMI*”, 2021). Uma meta-análise com 43 estudos relatou um risco aumentado de aproximadamente 30% de recorrência de CM ou morte em mulheres obesas *versus* mulheres com peso normal com diagnóstico de CM (PROTANI; COORY; MARTIN, 2010). Outro estudo com 67.214 mulheres na menopausa, mostrou que as que eram obesas tiveram maior risco de desenvolver CM em comparação com as de peso normal (NEUHOUSER et al., 2016).

1.1.2 Genética e resposta imune do câncer de mama

Cada célula cancerosa possui seu próprio arranjo de alterações genéticas, mutações que modificam de forma permanente a sequência do Ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês *desoxyribonucleic acid*), e epigenéticas, que alteram o padrão de expressão, sem alterar a sequência do DNA, herdáveis, mas não permanentes (VOGELSTEIN et al., 2013). Indivíduos com CM e a mesma classificação histológica, podem apresentar diferentes combinações de polimorfismos e de modificações na expressão gênica, corroborando a ideia de ser uma doença heterogênea. O desenvolvimento do câncer requer um acúmulo gradual de mutações em um número de genes diferentes, porém, algumas mutações são mais determinantes que outras (BENNETT; GATTAS; TEH, 1999; BRUCE ALBERTS, ALEXANDER JOHNSON, JULIAN LEWIS, MARTIN RAFF, KEITH ROBERTS, 2010; POMERANTZ; FREEDMAN, 2011).

O CM pode ser classificado como hereditário quando o componente genético é determinante para o desenvolvimento da doença, como no caso de herança de polimorfismos em genes de alta penetrância, cujos produtos participam no reparo, na replicação e na transcrição do DNA (ácido desoxirribonucleico, do inglês *desoxyribonucleic acid*). O CM hereditário é responsável por 5-10% do total dos casos (ACS, 2021; MAHDAVI et al., 2019). Em 90% dos casos hereditários de CM polimorfismos dos genes *BRCA1/ BRCA2* (Câncer de mama 1-2 início precoce, do inglês *Breast cancer 1-2, early onset*) estão envolvidos (FORD et al., 1998). Existem mais de 1.600 e 1.800 variantes conhecidas em *BRCA1* e *BRCA2*, respectivamente, a maioria das quais leva à produção de proteínas não funcionais, afetando o funcionamento do mecanismo de reparo do DNA (PETRUCELLI; DALY; FELDMAN, 2010; WOOSTER et al., 1995).

Outros polimorfismos em genes de alta penetrância foram identificados como associados à susceptibilidade ao CM familiar, tais como em *TP53* (*tumor protein p53*), *CDH1* (*cadherin 1, type 1*) e *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog*). Assim, os casos de CM hereditários revelam um padrão de herança aparentemente dominante e são frequentemente

caracterizados por uma idade de início precoce, bilateral e, também, maior risco de desenvolvimento de câncer de ovário (ELLISEN; HABER, 1998; LARSEN et al., 2014; LEE; MOON; KIM, 2020).

É pertinente ressaltar que a maioria dos CM é do tipo denominado esporádico, nos quais existe uma complexa interação entre polimorfismos e modificações na expressão de genes de média e baixa penetrância com fatores ambientais. Esses genes possuem papel importante para a compreensão da etiologia multifatorial do CM (KENEMANS; VERSTRAETEN; VERHEIJEN, 2004). No CM esporádico diversos genes e vias podem estar envolvidos no desenvolvimento da doença, como proto-oncogenes, genes supressores de tumor, genes de apoptose, receptores de estrogênio e de progesterona, genes de invasão e adesão celular, genes relacionados à angiogênese, genes relacionados à inflamação, entre outros (LEREBOURS; LIDEREAU, 2002; SLEDGE; MILLER, 2003).

Os eventos iniciais do desenvolvimento de um tumor maligno na mama podem ocorrer em uma variedade de genes específicos, conduzindo por diferentes vias e, provavelmente, a diferentes tipos de tumor, que têm um desfecho clínico diferente (KENEMANS; VERSTRAETEN; VERHEIJEN, 2004). O sistema imune desempenha um papel fundamental e complexo no CM (CIMINO-MATHEWS et al., 2015). O crescimento de células malignas é determinado, em grande parte, por sua capacidade de proliferar e invadir tecidos do hospedeiro (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019; FARES et al., 2020). Assim, mecanismos que inibem a resposta imune e induzem tolerância são fundamentais para a sobrevivência dos tumores (ROBINSON et al., 2001). A resistência ao ataque da resposta imune e a presença de inflamação são duas das principais características do câncer (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Os mecanismos de manipulação imunológica também são considerados características essenciais das células cancerosas. Os tumores têm a capacidade de influenciar seu microambiente imunológico exercendo sinalização imunossupressora, evitando o reconhecimento imunológico ou mantendo e aumentando a inflamação que promove o tumor. Dadas as condições adequadas, a ativação leucocitária iniciada por células mutadas pode (CAVALLO et al., 2011). Nesse contexto, as citocinas medeiam muitas interações entre células imunes e não imunes no microambiente tumoral (BRIUKHOVETSKA et al., 2021).

1.1.3 Citocinas e câncer

As citocinas são um grupo de proteínas funcionais rapidamente sintetizadas e secretadas por diferentes tipos de células do sistema imune. Foram descritas inicialmente como

moduladoras da resposta imune e da inflamação (O'SHEA; GADINA; SIEGEL, 2013; WATKINS; MAIER; GOEHLER, 1995). Elas agem em muitas células alvo adjacentes diferentes (pleiotropismo) e induzem o crescimento, diferenciação e sinais inflamatórios ou anti-inflamatórios para diferentes tipos celulares (BERRAONDO et al., 2019). Em organismos multicelulares, as citocinas são mediadores intercelulares que regulam a sobrevivência, o crescimento, a diferenciação e as funções efetoras das células. Portanto, não é surpreendente que as citocinas afetem significativamente o crescimento de tumores *in vivo*. Elas também são produzidas por células cancerosas e representam uma rede com uma grande variedade de membros molecular e funcionalmente distintos que podem atuar como fatores de promoção ou inibição do crescimento tumoral (NICOLINI; CARPI; ROSSI, 2006).

Um número crescente de estudos vem investigando se as elevações de alguns tipos de citocinas estão associadas à indução e progressão de tumores (AMIN et al., 2020; HANAHAN; WEINBERG, 2011; LANDSKRON et al., 2014; ZAMARRON; CHEN, 2011). Dentro do microambiente tumoral, as citocinas medeiam as interações célula a célula para promover o crescimento do tumor. A produção de citocinas induzidas por tumor e a inflamação no microambiente tumoral promovem e aceleram o desenvolvimento do câncer (GRETEN; GRIVENNIKOV, 2019; KARTIKASARI et al., 2021; QUINN et al., 2020).

Muitas citocinas atuam recrutando tipos específicos de células para um microambiente inflamatório com impacto direto no processo metastático, na progressão do tumor e na angiogênese (CONLON; MILJKOVIC; WALDMANN, 2019). A superexpressão de citocinas que induzem a inflamação, por exemplo, foi relatada em alguns trabalhos com tumores de mama (DRANOFF, 2004; ESQUIVEL-VELÁZQUEZ et al., 2015; KAWAGUCHI et al., 2019).

As citocinas e seus receptores podem ser agrupados estruturalmente em famílias diferentes: interleucinas (IL), interferons (IFN), quimiocinas, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , do inglês *Tumor Necrosis Factor alfa*) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β do inglês *transforming growth factor beta*) (TURNER et al., 2014).

Dentre as citocinas, várias IL são importantes no desenvolvimento e progressão dos cânceres. A multiplicidade de fontes celulares, receptores e vias de sinalização definem o papel pleiotrópico das IL no câncer (BRIUKHOVETSKA et al., 2021; MANTOVANI et al., 2019), constituindo um grupo de proteínas secretadas com diversas estruturas e funções. Essas proteínas se ligam a receptores e estão envolvidas na comunicação entre os leucócitos. Elas estão intimamente relacionadas com a ativação e supressão do sistema imune e divisão celular. As IL são sintetizadas principalmente por linfócitos auxiliares, monócitos, macrófagos, células NK e células endoteliais (FERREIRA et al., 2018). No contexto da formação do tumor a

inflamação crônica destaca-se como um fator importante. Após o surgimento do câncer, a sinalização de IL nas células cancerosas pode se tornar um mecanismo de crescimento, progressão tumoral e disseminação metastática (BREVI et al., 2020; BRIUKHOVETSKA et al., 2021).

As IL e seus receptores podem ser classificados conforme sua estrutura em superfamília, famílias e subfamílias diferentes. Algumas IL foram investigadas no contexto tumoral como as elencadas no quadro 1.

Quadro 1 – Interleucinas investigadas no contexto tumoral e suas respectivas famílias.

Superfamília ou família	Interleucinas
Superfamília IL-1 - subfamília IL-1	IL-1 α , IL-1 β e IL-33
Superfamília IL-1 - subfamília IL-18	IL-18 e IL-37
Superfamília IL-1 - subfamília IL-36	IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ e IL-38
Família IL-2	IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21
Família IL-3	IL-3 e IL-5
Família IL-6	IL-6, IL-11 e IL-31
Família IL-10	IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 e IL-26
Família IL-12	IL-12, IL-23, IL-27, IL-30 e IL-35
Família IL-17	IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E e IL-17F
Família IFN λ (IFN tipo III)	IL-28A, IL-28B e IL-29
Outras IL	IL-8, IL-13, IL-14 α , IL-14 β , IL-16, IL-32 e IL-34

Fonte: elaborado pela autora com informações de (BRIUKHOVETSKA et al., 2021).

Com relação a IL-6, por exemplo, efeitos pró-oncogênese foram demonstrados em vários tipos de câncer, incluindo CM (SUN et al., 2019). A IL-6 pode atuar com proteínas da família de Transdutores de sinal e ativadores da transcrição (STAT, do inglês *Signal Transducer and Activator of Transcription*) para auxiliar os processos tumorigênicos (ROSE-JOHN; SCHOOLTINK, 2007). Sobre a IL-1 um estudo de 2016 verificou um papel funcional da sinalização da IL na progressão e metástase do tumor de mama (HOLEN et al., 2016). Para a IL-2, foi observado em estudos clínicos que a sua expressão era maior em tumores infiltrantes de mama em comparação com as amostras normais (GARCÍA-TUÑÓN et al., 2003).

Com relação a IL-17, um estudo demonstrou a correlação entre taxas elevadas de células produtoras de IL-17 com alto grau histológico, *status* de receptor de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (PRG) negativo e subtipos moleculares triplo-negativos. Níveis elevados de expressão de células produtoras de IL-17 no microambiente tumoral da glândula mamária estão correlacionados a fatores de pior prognóstico para estadiamento, sobrevida geral e remissão da doença (WELTE; ZHANG, 2015). Diante destes e de outros estudos, observamos o papel das IL na formação, proliferação e migração do CM, afetando o perfil invasivo e

metastático da doença, induzindo angiogênese e crescimento tumoral, atuando como fatores prognósticos e até determinando as taxas de sobrevida da doença (FASOULAKIS et al., 2018).

A família dos IFN representa um grupo de citocinas amplamente expresso, crucial para os processos inflamatórios. Inclui três classes principais com mais de 20 IFN, designadas como IFN tipo I, IFN tipo II e IFN tipo III, classificadas conforme suas características e os receptores específicos aos quais se ligam (FERREIRA et al., 2018; LAN; CHEN; WEI, 2021; MCNAB et al., 2015; PARKIN; COHEN, 2001). No contexto tumoral, os IFN podem afetar o metabolismo e a proliferação de células cancerosas por meio de uma ampla variedade de vias moleculares e também podem induzir a apoptose (CHAWLA-SARKAR et al., 2003). Os IFN do tipo I, por exemplo, possuem uma forte capacidade inibidora tumoral. O IFN-I induz a ativação de STAT-3 e ativa uma série de sinais a jusante para atingir a inibição da progressão do tumor. Alguns IFN do tipo I e do tipo II já foram aplicados direta ou indiretamente no desenvolvimento de terapias anticâncer.(LAN; CHEN; WEI, 2021; LU et al., 2019).

Os IFN podem erradicar as células cancerosas diretamente por meio de seus efeitos antitumorais ou indiretamente pela regulação da expressão de genes e aumento das respostas imunológicas (HAJI ABDOLVAHAB; MOFRAD; SCHELLEKENS, 2016; PARKER; RAUTELA; HERTZOG, 2016). Com relação ao CM, por exemplo, IFN- β inibe a expansão das células-tronco do câncer, impede o recrutamento de neutrófilos para o tumor e diminui a liberação do Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês *Vascular endothelial growth factor*), regula a angiogênese e o crescimento do tumor (DOHERTY et al., 2017). O IFN- γ induz falta de fornecimento de sangue para o tumor em CM (NI; LU, 2018). E o IFN- λ suprime a angiogênese tumoral, induz respostas de células T, induz imunidade inata, principalmente células *natural killers* (NK) (LASFAR et al., 2019).

As quimiocinas são pequenas proteínas que regulam principalmente o tráfego de leucócitos em condições homeostáticas e durante respostas imunológicas específicas. As quimiocinas guiam a migração e adesão dos leucócitos e influenciam funções celulares como proliferação, angiogênese e formação de tumores (COUSSENS; WERB, 2002; ROT; VON ANDRIAN, 2004). O sistema de quimiocinas em humanos compreende aproximadamente 50 proteínas classificadas em quatro subfamílias: CXC, CC, C e CX3C (GAO; FISH, 2018). As quimiocinas estão intimamente associadas à progressão do câncer, às metástases e à angiogênese (KUNDU; SURH, 2008). Muitos trabalhos foram desenvolvidos utilizando abordagens anticâncer projetadas para direcionar quimiocinas para inibir os processos de metástases e angiogênese (GERMANO et al., 2013; GERMANO; MANTOVANI; ALLAVENA, 2011).

Com relação ao CM, a super expressão do CXCR4 (do inglês *C-X-C chemokine receptor type 4*) foi relatada em alguns tipos de câncer, incluindo o de mama (SARVAIYA et al., 2013). O papel das interações CCL5-CCR5 (do inglês *C-C motif chemokine ligand 5* e *C-C motif chemokine receptor 5*) na promoção da tumorigênese do CM tem sido estudado. Os níveis de CCL5 são elevados em formas mais agressivas de CM e são preditivos de rápida progressão da doença (AZENSHTAIN et al., 2002; LUBOSHITS et al., 1999). CXCR4 e CCR7 (do inglês *C-C motif chemokine receptor 7*) são altamente expressos em tumores malignos de CM que metastizam para linfonodos locais, medula óssea, pulmões e fígado (SHARMA et al., 2010). Níveis elevados de CCL19 (do inglês *C-C motif chemokine ligand 19*) e CCL21 (do inglês *C-C motif chemokine ligand 21*), ligantes do CCR7, são encontrados nos linfonodos de pacientes com CM (MÜLLER et al., 2001). Em contraste, a CXCL14 (do inglês *C-X-C motif chemokine ligand 14*), que é abundantemente expressa no tecido normal de mama, mas regulada negativamente no tecido tumoral e linhagens celulares, regula negativamente o crescimento e a metástase do CM (GU et al., 2012).

O TNF- α (também conhecido como TNF) é uma citocina que teve o nome derivado de sua descoberta em 1975 como uma molécula que causava necrose tumoral *in vitro*. Pouco tempo depois, observou-se que a expressão do TNF- α foi promovida por células do sistema imune. Essas descobertas foram importantes para uma posterior caracterização da superfamília do TNF e da superfamília dos receptores do TNF (FERREIRA et al., 2018). O TNF- α é uma citocina inflamatória que participa da regulação de uma variedade de processos de sinalização (ATZENI; SARZI-PUTTINI, 2013). Ela é encontrada no microambiente tumoral em CM, sendo secretada por células estromais e pelas próprias células tumorais (YANG; ZHAO; ZHAO, 2017). Ao ligar-se ao seu receptor, o TNFR1 (Receptor do Fator de Necrose Tumoral 1, do inglês *tumor necrosis factor receptor superfamily member 1*), a citocina influencia a formação do tumor através de vários mecanismos como contribuir para a transição epitelial-mesenquimal, aumentar a taxa de proliferação celular e acelerar a angiogênese, entre outros (CAO, 2005; KUMAR et al., 2013; LI et al., 2009a).

A expressão aberrante de TNF- α foi encontrada em tipos de cânceres, incluindo o de mama (CRUCERIU et al., 2020). Essa citocina foi encontrada em níveis mais elevados em carcinomas invasivos de mama em comparação com tecidos normais de mama. Além disso, o número de células que expressavam TNF- α aumentou com o grau do tumor. Os níveis de TNF- α não influenciaram a angiogênese diretamente, mas foi observada uma correlação entre o TNF- α ligado aos seus receptores na superfície da célula tumoral e o *status* do linfonodo, sugerindo

uma ligação com o potencial metastático do tumor (LEEK et al., 1998). Estudo posterior mostrou que o TNF- α também foi altamente expresso por células tumorais em biópsias de CM, enquanto em células do ducto epitelial da mama normal seu nível era mínimo (SORIA et al., 2011). O TNF- α também foi encontrado em concentrações mais altas no soro de pacientes com CM em comparação com indivíduos saudáveis e também foi relacionado ao estágio tumoral (HAMED; ZAKHARY; MAXIMOUS, 2012).

O TGF- β é uma citocina pleiotrópica relacionada à muitas vias oncogênicas (MARSON et al., 2008; SANTIBAÑEZ; QUINTANILLA; BERNABEU, 2011). O TGF- β produzido por células inflamatórias, incluindo neutrófilos e macrófagos, desempenha um papel substancial na iniciação e progressão do tumor, e estudos demonstraram que o bloqueio de TGF- β aumentou significativamente os efeitos dos tratamentos anticâncer (BATLLE; MASSAGUÉ, 2019; MARIATHASAN et al., 2018). O TGF- β é um importante regulador do desenvolvimento e funções normais da glândula mamária, bem como do desenvolvimento e progressão dos tumores da mama. O TGF- β inibe a progressão do ciclo celular das células epiteliais, incluindo as dos lóbulos e ductos da glândula mamária (ARTEAGA; DUGGER; HURD, 1996). No CM, o TGF- β aumenta a vasculatura dentro do microambiente tumoral ao regular a expressão de VEGF e CCL2 (do inglês *C-C motif chemokine ligand 2*) (LIAO et al., 2011).

1.2 JUSTIFICATIVA

O CM é o câncer mais comumente diagnosticado em mulheres no mundo. Trata-se de uma doença heterogênea a nível molecular. O desenvolvimento do CM é regulado pela inflamação, quando ocorre uma interação complexa de células e moléculas, com o envolvimento de diversas citocinas pró e anti-inflamatórias. As citocinas desempenham um papel chave no direcionamento da resposta imune inata e adaptativa, têm uma função na ativação de células T regulatórias, angiogênese e potencial metastático, podendo se relacionar a uma maior agressividade da doença.

Apesar de todos os esforços que vêm sendo realizados para caracterizar molecularmente os tumores de mama, muitas lacunas permanecem e a identificação de novos biomarcadores é necessária a fim de aumentar o entendimento sobre a patologia. Assim, a busca de potenciais marcadores moleculares associados ao CM relacionados às citocinas, seus receptores e vias metabólicas envolvidas é essencial para avanços científicos da área.

1.3 HIPÓTESES E ESTRUTURA DO TRABALHO

O presente trabalho foi organizado em dois capítulos (itens 2 e 3). O capítulo I investigou alterações transcricionais do tecido tumoral em CM comparado ao tecido adjacente não tumoral, partindo da hipótese de que estes tecidos apresentam diferenças de expressão dos transcritos relacionados às citocinas e seus receptores.

No capítulo II são apresentados resultados de um estudo caso-controle com amostras de CM de pacientes de Santa Catarina. Foram investigados polimorfismos genéticos de dois genes que codificam receptores de citocinas e as possíveis associações ao CM (dados clínicos e epidemiológicos). Tivemos por hipótese que os grupos de casos e controles apresentariam diferenças significativas em relação às frequências alélicas e genotípicas de variantes localizadas nos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI*, influenciando na susceptibilidade à doença. Também foi investigada a hipótese de associação dessas variantes aos dados clínicos e epidemiológicos de CM.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo Geral

Avaliar alterações transcricionais e variantes genéticas relacionadas às citocinas e seus receptores e possíveis associações ao CM.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Identificar genes diferencialmente expressos entre o tecido tumoral e o tecido adjacente não tumoral de mulheres diagnosticadas com CM através de dados disponíveis em bancos de dados públicos;
- Identificar redes de coexpressão gênica a partir dos dados de genes diferencialmente expressos;
- Identificar vias metabólicas e processos biológicos enriquecidos relacionados às citocinas e seus receptores;
- Analisar de forma conjunta os resultados de enriquecimento dos genes diferencialmente expressos e das duas análises de redes de coexpressão, a fim de identificar genes relacionados às citocinas mais importantes dentro das vias enriquecidas e na sequência investigar o potencial do gene como marcador para o tecido tumoral de mama;

- Identificar a variabilidade dos SNP rs1800693 do gene *TNFRSF1A* e rs4649203 do gene *IFNLRI* em mulheres com e sem CM no estado de Santa Catarina e sua possível associação com o desenvolvimento da doença;
- Identificar a presença de associação entre alelos e genótipos dos SNP rs1800693 e rs4649203 com as principais características clínicas das mulheres com CM e relacionar os dados encontrados com o desenvolvimento e a patogênese do CM.

2 CAPÍTULO I - TRANSCRIPTOMA COMPARATIVO E REDES DE COEXPRESSION EM TECIDOS TUMORAIS E NORMAIS ADJACENTES EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA

2.1 INTRODUÇÃO

O CM é a neoplasia maligna mais frequente em mulheres no mundo, representando cerca de um terço dos diagnósticos de câncer e a primeira causa de morte relacionada ao câncer em mulheres. A evolução do CM é um processo complexo influenciado por fatores genéticos e estímulos extracelulares, que coordenam a interação entre as células tumorais e a vigilância do sistema imune (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2020).

Os mecanismos imunológicos que controlam a progressão do CM têm sido o foco de pesquisas (BAXEVANIS; FORTIS; PEREZ, 2021; KAEWKANGSADAN et al., 2016; SPELLMAN; TANG, 2016), que permitiram uma compreensão mais ampla de como o sistema imune interage com o CM. A partir disso, foram descobertas muitas células e citocinas envolvidas no ambiente imunológico do CM, algumas com funções antitumorígenicas, outras com funções protumorígenicas ou imunossupressoras. Essas citocinas também são capazes de promover a progressão tumoral por meio da inflamação crônica. Logo, investigar como o sistema imune funciona e afeta o CM é parte fundamental no desenvolvimento de novos tratamentos, bem como para um prognóstico mais preciso da doença (AMENS; BAHÇECIOGLU; ZORLUTUNA, 2021).

Além disso, a disponibilidade crescente de dados de sequenciamento de mRNA fornece um valioso recurso para investigar mecanismos moleculares de doenças complexas como o CM, incluindo genes críticos para o desenvolvimento da doença, vias e redes relacionadas ao sistema imune. A análise de rede de coexpressão de gene ponderada (WGCNA, do inglês *Weighted Correlation Network Analysis*) é um método amplamente utilizado na exploração de módulos de coexpressão correlacionados com características ou fenótipos baseados em dados de expressão (LANGFELDER; HORVATH, 2008).

No presente trabalho, foram realizadas duas análises de rede de coexpressão gênica com base em dados de sequenciamento de RNA (RNA-seq) de CM para identificar módulos e vias de coexpressão críticos relacionados com o desenvolvimento do tecido tumoral, o que pode fornecer novas ideias para explorar os mecanismos moleculares subjacentes de CM. O foco das análises foram genes e vias relacionados às citocinas e seus receptores.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Amostras e análises dos dados do TCGA

Foram utilizados dados moleculares e clínicos de pacientes diagnosticados com CM disponíveis no banco de dados públicos do Atlas do Genoma do Câncer (TCGA do inglês *The Cancer Genome Atlas*). O TCGA é uma plataforma que agrupa dados genômicos publicamente disponíveis para pesquisadores (WEINSTEIN et al., 2013).

No projeto BRCA-US do TCGA estão disponíveis dados moleculares de 1.093 pacientes diagnosticados com CM, dos Estados Unidos da América. Entre as informações estão disponibilizadas estão dados de expressão gênica de CM (1.041 pacientes) obtidos através de RNA-seq utilizando a plataforma Illumina® HiSeq, baseados na versão hg37 do genoma humano. O *download* dos dados de expressão das amostras e dos dados clínicos e epidemiológicos foi realizado através do Portal de Dados do *International Cancer Genome Consortium* (ICGC *Data Portal*) em outubro de 2020 (*dbGaP Study Accession*: phs000178). Das 1.041 amostras com dados de RNA-seq disponíveis, foram selecionadas amostras de 112 mulheres diagnosticadas com CM, do tipo carcinoma ductal invasivo, e que possuíam dados de expressão gênica do tecido tumoral e do tecido adjacente não tumoral. Para cada paciente selecionada, os dados de expressão foram obtidos na forma de contagens de leituras de RNA-seq mapeadas ao genoma humano.

As análises foram realizadas utilizando-se o *software* R (v. 4.0.4) (R CORE TEAM (2020), [s.d.]). Os pacotes utilizados para gerar as análises bioinformáticas foram obtidos através do repositório digital Bioconductor (v. 3.12) (GENTLEMAN et al., 2004).

2.2.2 Identificação e anotação dos genes diferencialmente expressos

Os genes diferencialmente expressos (GDE) foram detectados com o uso do pacote DESeq2 versão 1.30.1 (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014). Esse pacote é uma das bibliotecas estatísticas desenvolvidas em *software* R e disponibilizadas pelo projeto Bioconductor (GENTLEMAN et al., 2004) utilizados para análises de expressão diferencial. O pacote DESeq2 fornece métodos para testar a expressão diferencial pelo uso de modelos lineares generalizados binomiais negativos. As estimativas de dispersão e alterações logarítmicas incorporam distribuições anteriores baseadas em dados (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014).

A partir dos dados de expressão gênica, foi montada uma matriz com contagens não normalizadas com o auxílio do *software* R. O pacote DESeq2 utiliza como método de normalização a mediana das razões. A média geométrica foi calculada para cada gene em todas

as amostras (total de 20.005 genes). A contagem de um gene em cada amostra foi dividida por essa média. A mediana dessas proporções em cada biblioteca foi o fator de tamanho dessa amostra. Esse procedimento corrige o tamanho da biblioteca e o viés da composição do RNA, que pode surgir, por exemplo, quando apenas um pequeno número de genes é altamente expresso em uma condição de experimento, mas não na outra. Um valor de dispersão foi estimado para cada gene por meio de um procedimento de ajuste de modelo. O modelo DESeq2 corrige internamente o tamanho da biblioteca, portanto, valores transformados ou normalizados, como contagens escalonadas pelo tamanho da biblioteca, não devem ser usados como entrada (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014).

Previamente às análises estatísticas foi realizada uma filtragem, na qual genes com contagem igual a zero foram removidos (genes não expressos: *outliers*) das análises seguintes. O pacote DESeq2 detecta a contagem de *outliers* usando a distância de Cook (mede o efeito de excluir uma dada observação) e removendo esses genes da análise. Após a filtragem, 20.005 genes foram analisados para expressão diferencial. O pacote DESeq2 permite uma análise mais quantitativa de dados de RNA-seq pelo melhoramento das estimativas de dispersão (*estimateSizeFactors*) e *fold change*. As etapas de análise de expressão diferencial são agrupadas em uma função chamada DESeq, na qual é feita uma normalização (estimar fatores de normalização), uma dispersão (estimar valores de dispersão) e obtenção das contagens normalizadas e em logaritmo para plotagem. O DESeq2 aplica modelos lineares generalizados binomiais negativos para cada gene, usa o teste de Wald para avaliar significância e as taxas de falsos positivos (FDR, do inglês *False Discovery Rate*) para ajustar o valor de p . Os modelos lineares generalizados aumentam as possibilidades de análises. O teste de Wald realiza a comparação entre a estimativa de máxima verossimilhança do parâmetro e a estimativa de seu erro padrão. O FDR expressa a proporção esperada de hipóteses nulas rejeitadas erroneamente possibilitando o controle dos falsos positivos. Foram considerados significativos os transcritos que apresentavam valor de p ajustado $< 0,05$ e $\log_2\text{-fold-change} \geq 2$ e ≤ -2 .

Na sequência, a anotação dos genes que apresentaram expressão diferencial entre o tecido tumoral e tecido adjacente não tumoral foi feita no *software* R com o auxílio do pacote *biomaRt* versão 2.46.3 do Ensembl (DURINCK et al., 2009), disponibilizado pelo projeto Bioconductor (GENTLEMAN et al., 2004).

Ainda foi realizada uma análise de componente principal (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), com o auxílio do *software* R, para detectar as relações entre as variáveis de expressão gênica. A PCA é um algoritmo matemático que reduz a dimensionalidade dos

dados, enquanto retém a maior parte da variação no conjunto de dados. A PCA realiza essa redução identificando direções, chamadas de componentes principais, ao longo das quais a variação nos dados é máxima. Usando alguns componentes, cada amostra pode ser representada por relativamente poucos números em vez de valores para milhares de variáveis. As amostras podem então ser plotadas, tornando possível avaliar as semelhanças e diferenças entre as amostras e determinar se as amostras podem ser agrupadas (PEARSON, 1901; RINGNÉR, 2008).

2.2.3 Análise de redes de coexpressão gênica

A análise de redes de coexpressão gênica foi executada utilizando o pacote WGCNA disponível em CRAN (*Comprehensive R Archive Network*) (<https://cran.r-project.org>). Essa análise pode ser usada para encontrar módulos (*clusters*) de genes altamente correlacionados. Redes de correlação facilitam métodos de triagem de genes baseados em rede que podem ser usados para identificar biomarcadores candidatos (LANGFELDER; HORVATH, 2008; ZHANG; HORVATH, 2005).

Para análise coexpressão gênica através do WGCNA, primeiramente, é construída uma matriz de correlação de Pearson que mensura a similaridade entre os perfis de expressão gênica de todas as amostras. Na sequência, esta matriz de similaridade é transformada em uma matriz de adjacência que é elevada a um expoente β (*soft threshold*) baseado no critério de topologia de escala livre conforme indicado por Zhang e Horvath (2005). Foi utilizada a função *pickSoftThreshold*, que realizou a análise da topologia da rede e auxiliou na escolha de uma potência de limiar adequada.

Para minimizar os efeitos de ruído e associações espúrias, a adjacência foi transformada em matriz de sobreposição topológica (TOM, do inglês *Topological overlap matrix*) e foi calculada a dissimilaridade correspondente. A TOM, foi utilizada para definição dos módulos baseados na dissimilaridade (1-TOM), que, segundo Zhang e Horvath (2005), gera módulos mais distintos entre si. Os módulos (conjuntos de genes com alta sobreposição topológica) foram formados com base em TOM.

Posteriormente foi realizada uma clusterização hierárquica com a função “*flashClust(as.dist(dissTOM),method="average")*”. Na sequência os módulos foram separados com a função “*dynamicMods = cutreeDynamic(dendro = geneTree, method="tree", minClusterSize = minModuleSize)*” definindo o número mínimo de genes em cada módulo. Módulos altamente correlacionados entre si, foram agrupados baseado na dissimilaridade de seus genes, definidos como o primeiro componente principal de cada módulo e, considerados

uma representação do perfil de expressão gênica dentro do módulo (LANGFELDER; HORVATH, 2008; ZHANG; HORVATH, 2005). Por fim, a cada módulo de genes formado foi atribuída uma cor. Genes que não foram atribuídos a nenhum módulo foram agrupados no módulo Cinza (*Gray*).

Duas análises de redes de coexpressão gênica foram realizadas: uma utilizando todos os genes (análise I) e uma utilizando apenas os GDE (análise II).

2.2.4 Análises de enriquecimento funcional

Os GDE encontrados na etapa anterior e os genes dos módulos de coexpressão encontrados nas análises I e II foram utilizados nas análises de enriquecimento funcional realizado pelo método *clusterProfiler* versão 3.18.1 (YU et al., 2012), disponível no projeto Bioconductor. O método calcula o teste de enriquecimento para os termos do *Gene Ontology* (GO) (CONSORTIUM, 2000) como componente celular, função molecular e processos biológicos e vias da Enciclopédia de Genes e Genomas de Quioto (KEGG, do inglês *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) (KANEHISA et al., 2009) com base na distribuição hipergeométrica. Para controlar as FDR em múltiplos testes, os valores *p* ajustado também foram estimados (STOREY, 2002).

Também foi utilizado na análise de enriquecimento funcional realizada no *software* R o pacote DOSE versão 3.16.0 (YU et al., 2015) disponível no Bioconductor. O DOSE fornece cálculos de similaridade semântica entre os termos e genes de ontologia de doenças para explorar as funções de determinados genes no contexto de doenças complexas como o CM.

2.2.5 Investigação integrada de genes relacionados às citocinas que foram enriquecidos nas análises anteriores

Nesta etapa foram realizadas análises integradas com os genes enriquecidos em vias relacionadas às citocinas observados nas etapas anteriores. O primeiro passo foi selecionar vias enriquecidas no KEGG relacionadas às citocinas que estavam presentes em mais de uma análise. Os genes enriquecidos nessas vias selecionadas foram submetidos a diagramas de Venn para visualizar as sobreposições entre os conjuntos de dados. O pacote *VennDiagram* (CHEN; BOUTROS, 2011) do *software* R foi utilizado para elaborar os diagramas. Esse pacote suporta de 2 a 5 conjuntos de dados e possui parâmetros que permitem aos usuários customizar os diagramas.

Na sequência os genes que apareceram sobrepostos foram submetidos às análises de interação entre as proteínas. O banco de dados *Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes* (STRING) (<https://string-db.org/>) foi utilizado para analisar a interação entre as proteínas com pontuação de confiança $>0,7$ através da plataforma de *software Cytoscape* (versão 3.8.2) (disponível em <https://cytoscape.org/>). A extensão *cytoHubba* foi usada para construir as redes de interação. Os dez principais genes foram selecionados como candidatos a genes *hub* (genes que possuem um alto grau de conectividade entre os módulos) de acordo com o algoritmo *Maximal Clique Centrality* (MCC) (CHIN et al., 2014; ZHU et al., 2019b).

Posteriormente, foram realizadas análises de curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC), que são utilizadas na área clínica para quantificar a qualidade com que determinado teste ou sistema discriminou entre dois estados, por exemplo, pessoa com doença e pessoa saudável (SWETS, 1986). Essa análise também pode ser utilizada para avaliar os papéis preditivos de genes selecionados. Assim, essa análise foi aplicada em RNA relacionados às citocinas que estavam diferencialmente expressos entre o tecido tumoral e o tecido adjacente não tumoral e que foram enriquecidos dentro dos módulos gerados, ou seja, os que possuíam maiores condições para desempenhar o papel de marcadores do CM.

Os resultados da análise são visualizados em gráficos da curva ROC, gerados com o auxílio do pacote *pRoc* versão 1.17.0.1 no *software* R (ROBIN et al., 2011). O índice de precisão utilizado foi a área abaixo da curva (AUC, do inglês *Area Under the Curve*), sendo o valor aceitável neste trabalho maior que 0,75. Os gráficos gerados estão baseados na noção de escala de separação, nos quais os resultados da média de expressão do transcrito para o tecido tumoral e adjacente não tumoral formam um par de distribuições sobrepostas. A completa separação entre as duas distribuições implica numa discriminação perfeita dos dois estados. Já uma completa sobreposição implica em não discriminação. A AUC tem valor máximo de 1 e é uma medida de precisão que combina a sensibilidade e a especificidade, descrevendo a qualidade do marcador predito (ROBIN et al., 2011).

2.3 RESULTADOS

Através do projeto BRCA-US foram obtidos dados de expressão de RNA de 1.041 indivíduos. Foram considerados no presente trabalho apenas dados das amostras de tecido tumoral e tecido adjacente não tumoral provenientes das mesmas pacientes. Com isso, ao final dessa filtragem, restaram dados de 112 mulheres (112 amostras de tecido tumoral e 112 amostras de tecido adjacente não tumoral) que seguiram para as análises. Foi encontrado um total de 20.501 tipos de transcritos nessas amostras. Na Tabela 1 estão mostradas as informações

clínicas e epidemiológicas das pacientes incluídas no estudo, disponíveis no TCGA. As mulheres apresentaram uma idade média de 57 anos, 67% estavam vivas no último acompanhamento e entre as que faleceram 68% sobreviveram menos de 5 anos.

Tabela 1 - Características clínicas e epidemiológicas das pacientes com câncer de mama selecionadas.

Característica	Informação	Amostras: n (%)
Fonte das amostras	TCGA	112 pacientes
Idade das pacientes	Média±Desvio Padrão	57,09±14,67
	30-50 anos	42 (38%)
	51-70 anos	48 (43%)
	>70 anos	22 (20%)
Status das pacientes no último acompanhamento	Viva	75 (67%)
	Morta	37 (33%)
Sobrevida das pacientes que morreram	< 5 anos	25 (68%)
	≥ 5 anos	12 (32%)

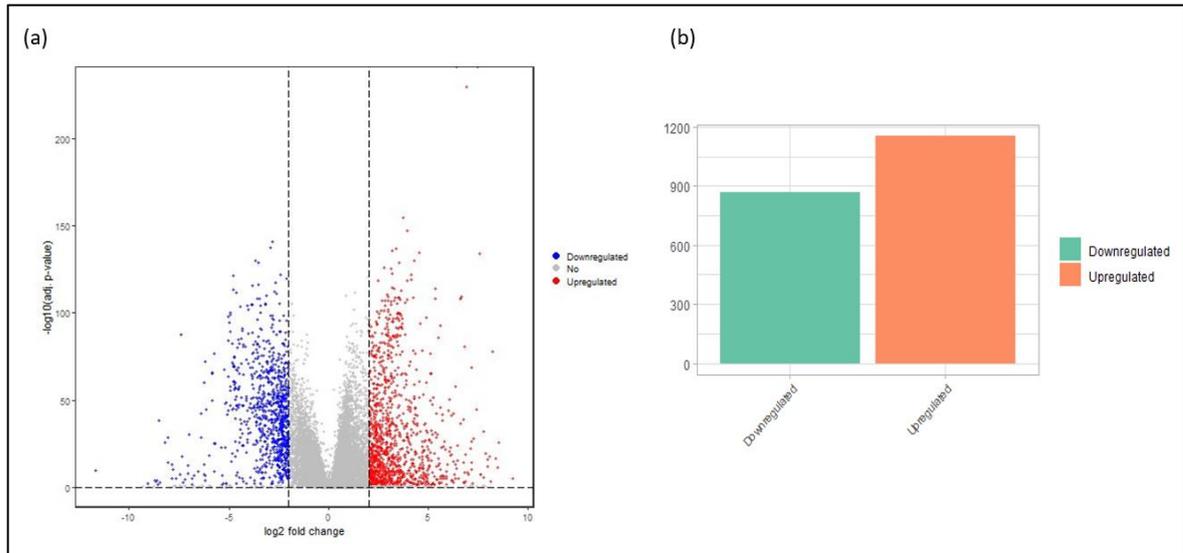
Abreviações: n: número.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

2.3.1 Identificação dos genes diferencialmente expressos

Dos 20.005 transcritos iniciais obtidos após a filtragem, 2.020 foram identificados como diferencialmente expressos em tecido tumoral em relação ao tecido adjacente não tumoral, considerando-se um valor de p ajustado menor que 0,05, e um $\log_2\text{FoldChange}$ menor que -2 para os menos expressos, e maior que 2 para os mais expressos (lista completa dos genes com os respectivos valores de $\log_2\text{FoldChange}$ e valor de p ajustado na tabela S1 no APÊNDICE A). Desses, 1.152 estavam mais expressos em tecido tumoral (superexpressos ou *upregulated*) e 868 estavam menos expressos (subexpressos ou *downregulated*) quando comparados ao tecido adjacente não tumoral (Figura 2).

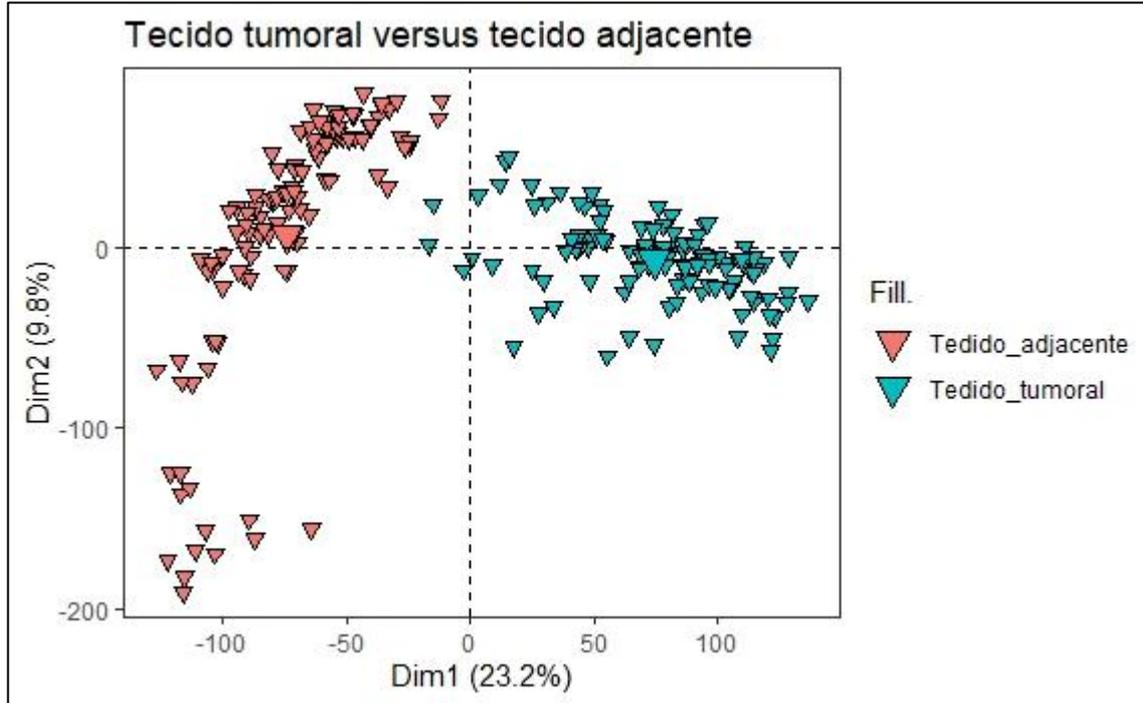
Figura 2 – Genes diferencialmente expressos. (a) *Volcano plot* da análise de expressão diferencial dos transcritos em tecido tumoral com relação ao tecido adjacente não tumoral. Em vermelho, os transcritos mais expressos (*upregulated*). Em azul, transcritos menos expressos (*downregulated*). A linha tracejada horizontal representa o corte em 1 no eixo do $\log_{10}(\text{FDR})$. As linhas tracejadas verticais representam os cortes no eixo do $\log_2\text{FoldChange}$ em -2 e 2. (b) Gráfico apresentando a quantidade de genes diferencialmente expressos, *upregulated* e *downregulated*, no tecido tumoral em comparação com o tecido adjacente não tumoral.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para confirmar se os GDE eram capazes de distinguir as amostras de tecido tumoral das amostras de tecido adjacente não tumoral foi realizada uma PCA (Figura 3). O componente principal 1 (Dim1) contribuiu em 23,2% para a separação dos grupos e o componente principal 2 (Dim2) contribuiu em 9,8%. A análise gráfica da PCA mostrou a formação de grupos distintos, indicando que houve diferença na expressão dos genes entre os grupos tecido tumoral e tecido adjacente não tumoral.

Figura 3 - Análise de componentes principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) da análise de expressão diferencial do RNA em tecido tumoral e tecido adjacente não tumoral.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

2.3.2 Análise de enriquecimento funcional dos genes diferencialmente expressos

Para interpretar o papel biológico dos GDE foi realizada a análise de enriquecimento funcional das vias do KEGG e dos termos do GO. O resultado da análise do KEGG demonstrou 27 vias metabólicas significativamente enriquecidas (apenas as 10 vias mais enriquecidas estão detalhadas na Tabela 2, padrão que se repete nas demais tabelas com resultados de enriquecimento).

Tabela 2 - Análise de enriquecimento do KEGG de genes diferencialmente expressos.

Termo KEGG	Genes: n (%)	p valor ajustado
hsa04080: Via de interação ligante-receptor neuroativa	78 (11,14%)	< 0,000
hsa04060: Interação citocina e receptor da citocina	56 (8%)	< 0,000
hsa04020: Via de sinalização do cálcio	45 (6,42%)	< 0,000
hsa04024: Via de sinalização de cAMP	35 (5%)	0,005
hsa05034: Alcoolismo	28 (4%)	0,033
hsa04974: Digestão e absorção de proteínas	27 (3,85%)	< 0,000
hsa04657: Via de sinalização da IL-17	25 (3,57%)	< 0,000
hsa04728: Sinapse dopaminérgica	24 (3,42%)	0,006
hsa04261: Sinalização adrenérgica em cardiomiócitos	24 (3,42%)	0,028
hsa04110: Ciclo celular	23 (3,28%)	0,006

Abreviações: n = número; KEGG = Enciclopédia de Genes e Genomas de Quioto.

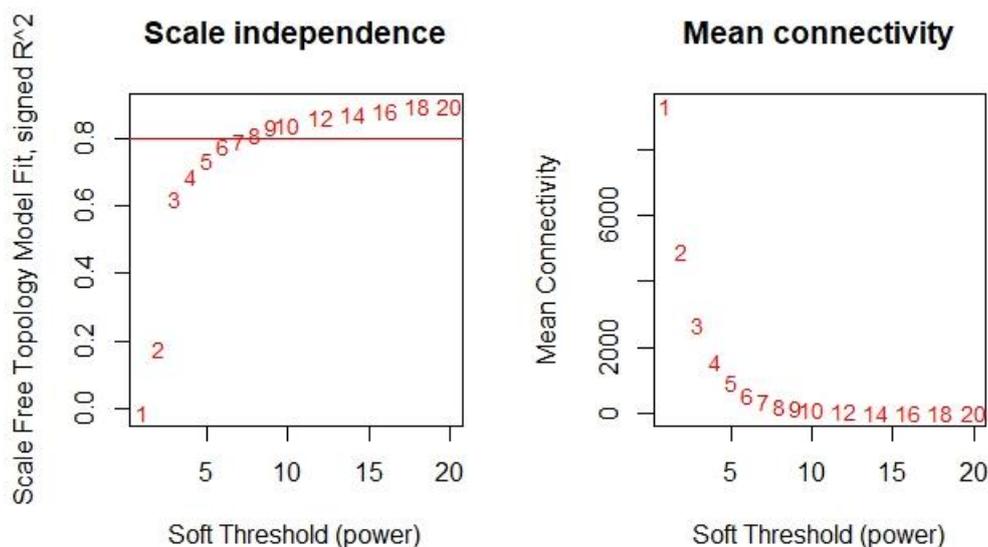
Fonte: elaborada pela autora (2021).

Os GDE foram enriquecidos principalmente em vias como, por exemplo, interação citocina e receptor da citocina e via de sinalização da IL-17. O resultado de enriquecimento dos processos biológicos do GO listou 166 termos, das funções moleculares listou 81 termos e dos componentes celulares do listou 65 termos (Tabela S2 no APÊNDICE B).

2.3.3 Análise I: identificação de redes de coexpressão gênica utilizando todos os transcritos disponíveis

Os módulos de coexpressão da Análise I foram construídos pelos valores de expressão de 19.559 genes em 112 amostras tumorais e 112 amostras de tecido adjacente não tumoral das mesmas pacientes diagnosticadas com CM. Os valores de potência foram selecionados pelo algoritmo WGCNA na construção de módulos de coexpressão. A independência de escala e a análise de conectividade média de módulos com diferentes valores de potência foram realizadas por teste de gradiente (valor de potência variando de 1 a 20) (Figura 4). O valor de poder apropriado foi determinado quando o valor de independência da escala era igual a 0,8. O algoritmo WGCNA foi então usado para construir os módulos de coexpressão e extrair a informação do gene em cada módulo.

Figura 4 - Análise da topologia da rede para vários poderes de limite suave da análise de coexpressão I. O painel esquerdo mostra o índice de ajuste sem escala (eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x). O painel direito exibe a conectividade média (grau, eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x).

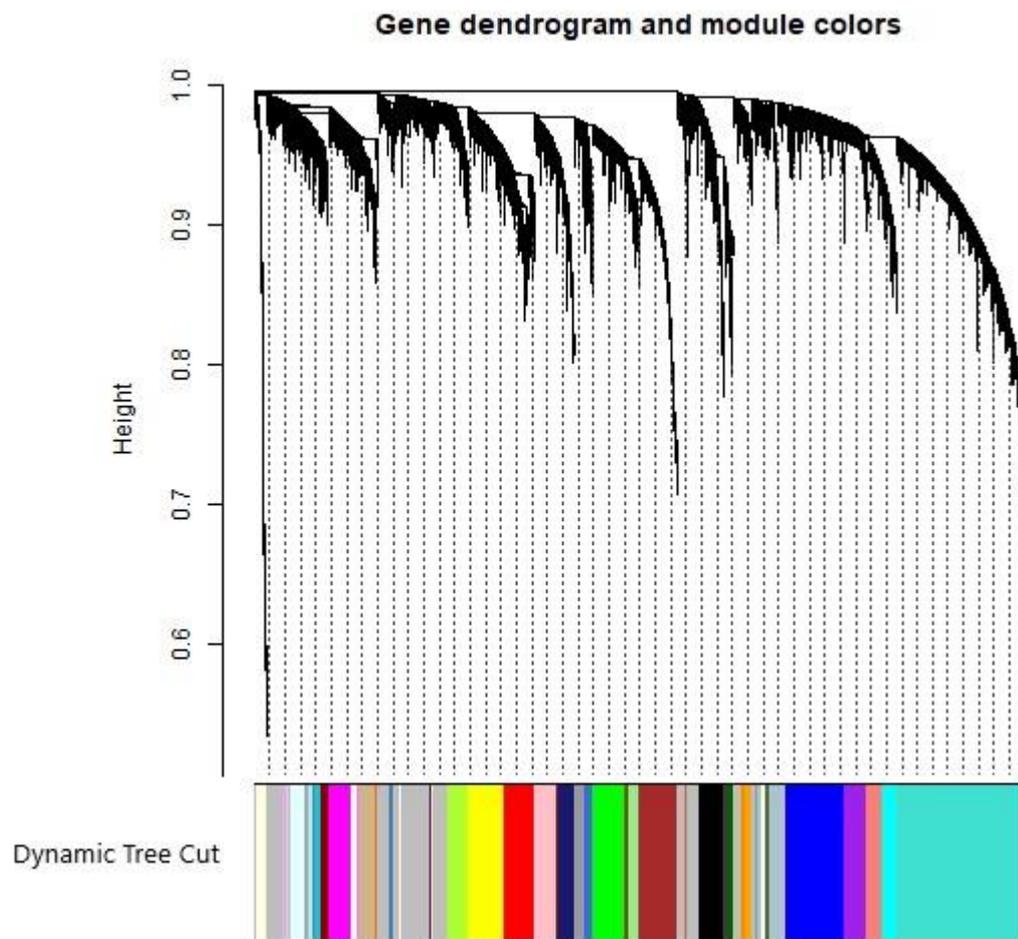


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Os transcritos foram agrupados em função da similaridade segundo o algoritmo *dynamicTOM overlap* formando 49 módulos de genes coexpressos. Esses módulos foram

identificados seguindo um esquema de cores atribuídas aleatoriamente. A Figura 5 apresenta os módulos definidos na análise de coexpressão I. O Quadro S1 apresenta a quantidade de genes enriquecidos em cada um dos módulos gerados (APÊNDICE C).

Figura 5 - Rede de coexpressão gênica em 112 pares de amostras de tecido tumoral e de tecido adjacente não tumoral de mama gerada pelo WGCNA (análise I). A conectividade dos 19.559 transcritos considerados na análise foi utilizada como medida de distância para a construção do dendrograma. O algoritmo *dynamicTOM overlap* foi usado para fazer o agrupamento dos transcritos em módulos da rede. Na barra horizontal, transcritos com a mesma cor se encontram no mesmo módulo. Foram anotados 49 módulos no total.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

2.3.4 Análise I: enriquecimento funcional das redes de coexpressão construídas utilizando todos os transcritos disponíveis

A análise de enriquecimento do KEGG e do GO foi realizada com os genes dos 49 módulos construídos a partir das contagens dos transcritos.

Na análise do KEGG 22 módulos apresentaram vias enriquecidas (Tabela S4 no APÊNDICE D), sendo que os módulos *Black* e *Turquoise* foram os mais relevantes por apresentarem vias diretamente relacionadas às citocinas e seus receptores (Tabela 3).

Tabela 3 - Análise de enriquecimento do KEGG dos módulos *Black* e *Turquoise* gerados na análise de coexpressão gênica I.

Módulo	Termo KEGG	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Black</i>	hsa04060: Interação citocina e receptor de citocina	36 (19,25%)	< 0,000
	hsa04650: Citotoxicidade mediada por células NK	21 (11,23%)	0,001
	hsa04062: Via de sinalização das quimiocinas	20 (10,70%)	0,002
	hsa04612: Processamento e apresentação de antígenos	19 (10,16%)	0,003
	hsa04659: Diferenciação de células Th17	16 (8,56%)	0,004
	hsa04660: Via de sinalização do receptor de células T	15 (8,02%)	0,005
	hsa04630: Via de sinalização JAK-STAT	13 (6,95%)	0,001
	hsa05235: Expressão de PD-L1 e via de checkpoint PD-1 no câncer	10 (5,35%)	< 0,000
	hsa04064: Via de sinalização NF-kappa B	10 (5,35%)	0,001
	hsa04668: Via de sinalização TNF	9 (4,81%)	0,007
<i>Turquoise</i>	hsa04151: Via de sinalização PI3K-Akt	82 (6,72%)	< 0,000
	hsa04080: Interação ligante-receptor neuroativo	77 (6,31%)	0,001
	hsa04020: Via de sinalização do cálcio	76 (6,23%)	< 0,000
	hsa04010: Via de sinalização MAPK	71 (5,82%)	< 0,000
	hsa04060: Interação citocina e receptor de citocina	64 (5,25%)	0,011
	hsa05205: Proteoglicanos no câncer	49 (4,02%)	0,005
	hsa04630: Via de sinalização JAK-STAT	36 (2,95%)	0,046
	hsa05224: Câncer de mama	34 (2,79%)	0,033
	hsa04931: Resistência à insulina	33 (2,70%)	< 0,000
	hsa04152: Via de sinalização AMPK	33 (2,70%)	0,003

Abreviações: n = número; KEGG = Enciclopédia de Genes e Genomas de Quioto.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Os genes do módulo *Black* foram principalmente enriquecidos em: interação citocina e receptor da citocina; citotoxicidade mediada por células NK; via de sinalização das quimiocinas; processamento e apresentação de antígenos, diferenciação de células Th17; via de sinalização do receptor de células T; via de sinalização JAK-STAT (do inglês *Janus kinases/signal transducer and activator of transcription proteins*); expressão de PD-L1 e via de checkpoint PD-1 no câncer; via de sinalização NF-kappa B e via de sinalização TNF.

No módulo *Turquoise*, os genes foram enriquecidos principalmente em: via de sinalização PI3K-Akt; interação ligante-receptor neuroativo; via de sinalização do cálcio; via

de sinalização MAPK; interação citocina e receptor da citocina; proteoglicanos em câncer; via de sinalização JAK-STAT; CM; resistência à insulina; e via de sinalização AMPK.

O enriquecimento dos termos do GO foi realizado para processos biológicos, funções moleculares e componentes celulares. Na análise dos processos biológicos, 8 módulos apresentaram termos enriquecidos (Tabela S4 no APÊNDICE E). Com relação às funções moleculares, 11 módulos apresentaram termos enriquecidos (Tabela S5 no APÊNDICE E). O módulo *Darkgreen* apresentou termos enriquecidos diretamente relacionados às citocinas e seus receptores (Tabela 4).

Tabela 4 - Enriquecimento do GO (funções moleculares) de genes no módulo *Darkgreen* da análise de coexpressão I.

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Darkgreen</i>	GO:0140375 - atividade do receptor imunológico	16 (11,59%)	< 0,000
	GO:0005543 - ligação de fosfolípidios	13 (9,42%)	< 0,000
	GO:0030246 - ligação de carboidratos	11 (7,97%)	< 0,000
	GO:0042277 - ligação de peptídeo	11 (7,97%)	< 0,000
	GO:0033218 - ligação de amida	11 (7,97%)	0,002
	GO:1901981 - ligação do fosfato de fosfatidilinositol	9 (6,52%)	< 0,000
	GO:0035091 - ligação do fosfatidilinositol	9 (6,52%)	0,002
	GO:0051015 - ligação do filamento de actina	8 (5,80%)	0,002
	GO:0004896 - atividade do receptor de citocinas	7 (5,07%)	< 0,000
	GO:0019955 - ligação de citocinas	7 (5,07%)	0,001

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

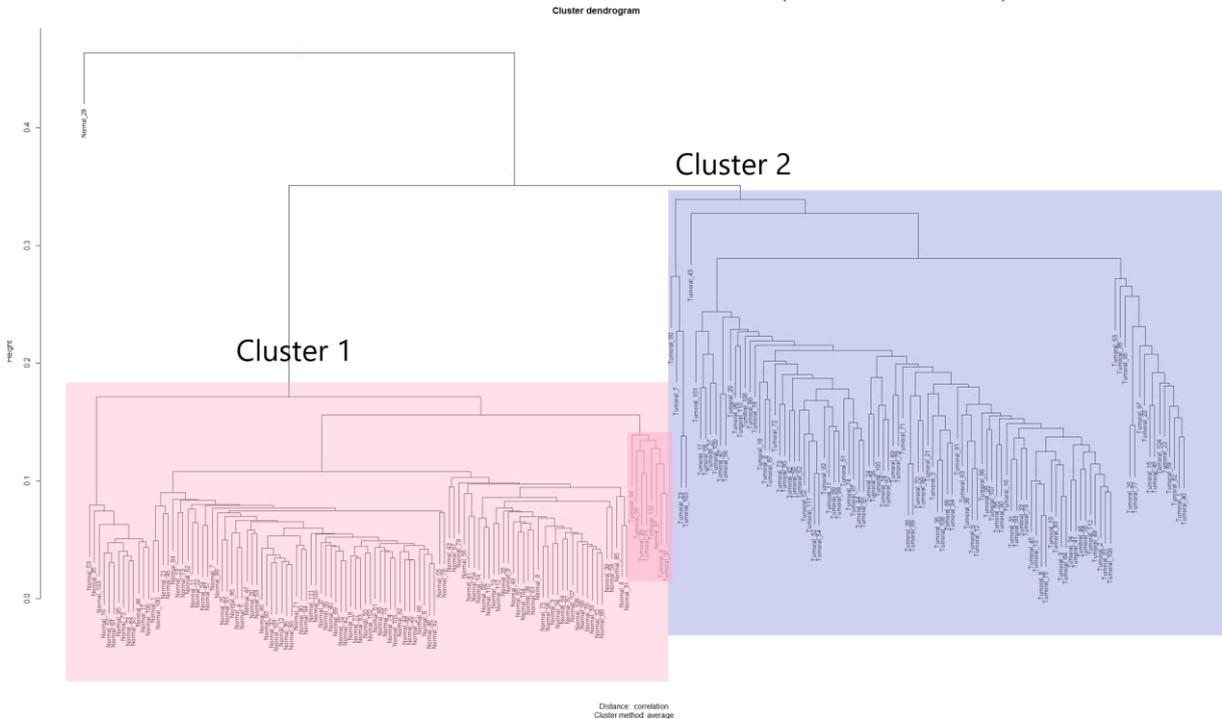
No módulo *Darkgreen* os genes foram principalmente enriquecidos em: atividade do receptor imunológico; ligação de fosfolípidios; ligação de carboidratos; ligação de peptídeo; ligação de amida; ligação do fosfato de fosfatidilinositol; ligação do fosfatidilinositol; ligação do filamento de actina; atividade do receptor de citocinas; e ligação de citocinas. Nas duas funções moleculares - atividade do receptor de citocinas e ligação de citocinas - os genes *CCR1*, *CD4*, *CD74*, *EBI3*, *IL10RA*, *IL12RB1* e *IL2RA* estavam enriquecidos, e nenhum destes apareceu como diferencialmente expresso no presente estudo.

Com relação aos componentes celulares, 10 módulos apresentaram termos enriquecidos (Tabela S6 no APÊNDICE E).

2.3.5 Análise II: identificação de redes de coexpressão gênica utilizando apenas os genes diferencialmente expressos

Os módulos de coexpressão da Análise II foram construídos pelos valores de expressão de 2.020 GDE em 112 amostras tumorais e 112 amostras de tecido adjacente não tumoral das mesmas pacientes diagnosticadas com CM usando o algoritmo WGCNA. Conforme demonstra a Figura 6, os genes utilizados conseguiram diferenciar as amostras em dois grandes grupos principais: amostras do tecido adjacente não tumoral (com coloração rosa claro – *Cluster 1*) e amostras do tecido tumoral (com coloração azul – *Cluster 2*).

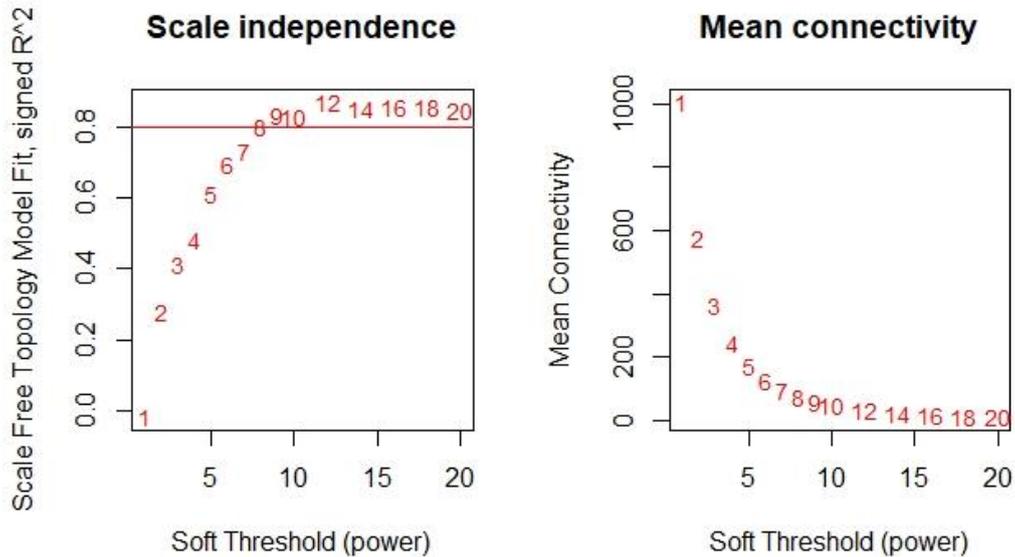
Figura 6 - Análise de *cluster* das amostras de tecido tumoral e de tecido adjacente não tumoral de pacientes com câncer de mama. Os 2.020 genes diferencialmente expressos foram usados para a análise por WGCNA e *flashClust*. As amostras foram divididas em dois *clusters* principais, *cluster 1* (rosa claro) e *cluster 2* (azul claro). Um *sub-cluster* de amostras de tecido tumoral foi identificado dentro do *cluster 1* (rosa mais escuro).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

O valor da potência foi um dos parâmetros críticos no processo de construção, que afetou principalmente a independência de escala e a conectividade média dos módulos de coexpressão. O limiar suave foi determinado pela independência de escala e análise de conectividade média de módulos com diferentes valores de potência variando de 1 a 20. Como mostrado na Figura 7, quando o valor de potência foi definido como 8, o valor de independência de escala atingiu 0,8. Portanto, a matriz de coexpressão foi calculada com o valor de potência determinado de 8.

Figura 7 - Análise da topologia da rede para vários poderes de limite suave da análise II. O painel esquerdo mostra o índice de ajuste sem escala (eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x). O painel direito exhibe a conectividade média (grau, eixo y) como uma função da potência de limiar suave (eixo x).

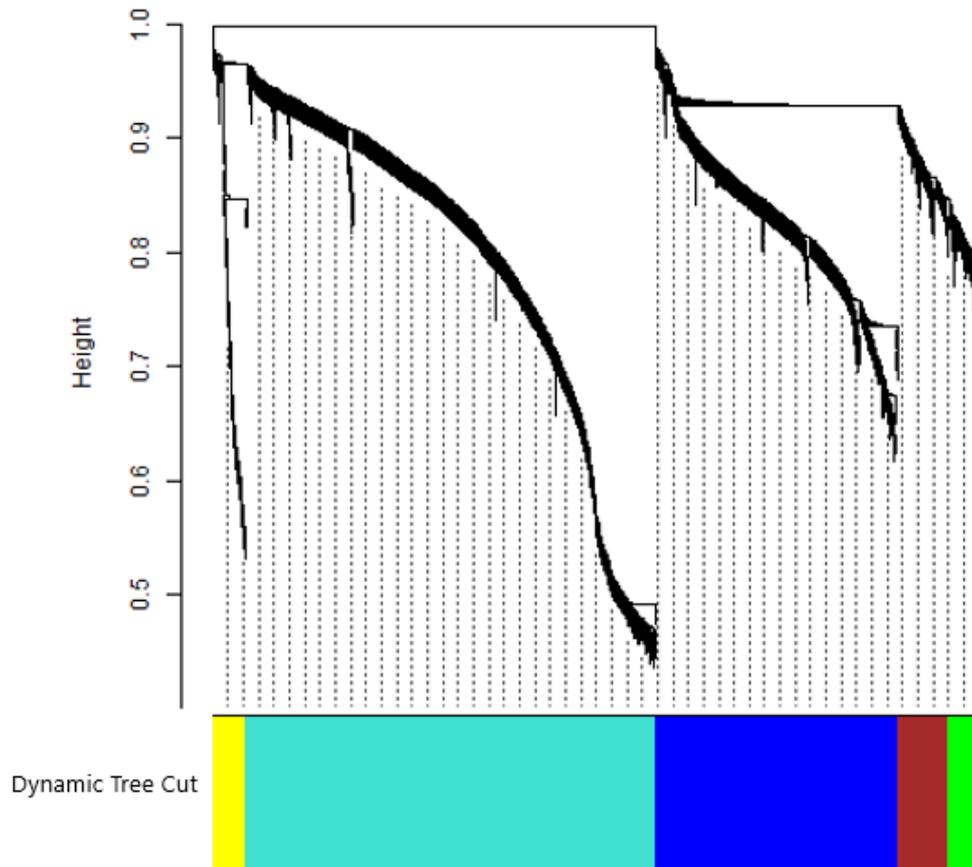


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Quando utilizamos somente os GDE, os transcritos foram agrupados em função da similaridade segundo o algoritmo *dynamicTOM overlap* formando 5 módulos. Esses módulos são identificados seguindo um esquema de cores atribuídas aleatoriamente. A Figura 8 apresenta os módulos definidos na análise de coexpressão II.

Figura 8 - Rede de coexpressão gênica em 112 pares de amostras de tecido tumoral e de tecido adjacente não tumoral de mama gerada pelo WGCNA (análise II). A conectividade dos 2.020 transcritos considerados na análise foi utilizada como medida de distância para a construção do dendrograma. O algoritmo *dynamicTOM overlap* foi usado para fazer o agrupamento dos transcritos em módulos da rede. Na barra horizontal, transcritos com a mesma cor se encontram no mesmo módulo. Foram anotados 5 módulos no total.

Gene dendrogram and module colors



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Foram observados 628 genes no módulo *Blue*, 130 genes no módulo *Brown*, 80 genes no módulo *Green*, 1.061 genes no módulo *Turquoise* e 86 genes no módulo *Yellow*.

2.3.6 Análise II: enriquecimento funcional das redes de coexpressão construídas utilizando os genes diferencialmente expressos

A análise de enriquecimento do KEGG e do GO foi realizada nos genes dos 5 módulos construídos a partir das contagens dos GDE.

Na análise do KEGG o resultado demonstrou vias metabólicas enriquecidas significativas nos módulos *Blue*, *Turquoise* e *Yellow* (Tabela 5). Os genes do módulo *Blue* foram enriquecidos principalmente em: via de interação ligante-receptor neuroativa; via de sinalização do cálcio; interação citocina e receptor da citocina; via de sinalização cAMP;

digestão e absorção de proteínas; via de sinalização PPAR; via de sinalização AMPK; via de sinalização da apelina; metabolismo do retinol; e metabolismo da tirosina.

Tabela 5 - Análise de enriquecimento do KEGG de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão II.

Módulo	Termo KEGG	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Blue</i>	hsa04080: Interação ligante-receptor neuroativo	28 (10,94%)	< 0,000
	hsa04020: Via de sinalização do cálcio	20 (7,81%)	0,002
	hsa04060: Interação citocina e receptor de citocina	19 (7,42%)	0,029
	hsa04024: Via de sinalização cAMP	16 (6,25%)	0,021
	hsa04974: Digestão e absorção de proteínas	15 (5,86%)	< 0,000
	hsa03320: Via de sinalização PPAR	13 (5,08%)	< 0,000
	hsa04152: Via de sinalização AMPK	13 (5,08%)	0,003
	hsa04371: Via de sinalização da apelina	12 (4,69%)	0,008
	hsa00830: Metabolismo do retinol	10 (3,91%)	< 0,000
hsa00350: Metabolismo da tirosina	10 (3,91%)	< 0,000	
<i>Turquoise</i>	hsa04080: Interação ligante-receptor neuroativo	37 (11,28%)	< 0,000
	hsa04060: Interação citocina e receptor de citocina	26 (7,93%)	0,006
	hsa04110: Ciclo celular	22 (6,71%)	< 0,000
	hsa04114: Meiose do oócito	19 (5,79%)	< 0,000
	hsa04657: Via de sinalização da IL-17	15 (4,57%)	< 0,000
	hsa04728: Sinapse dopaminérgica	15 (4,57%)	0,008
	hsa04742: Transdução do sabor	13 (3,96%)	0,002
	hsa04727: Sinapse GABAérgica	12 (3,66%)	0,008
	hsa05032: Dependência de morfina	12 (3,66%)	0,008
hsa05033: Dependência de nicotina	8 (2,44%)	0,006	
<i>Yellow</i>	hsa04080: Interação ligante-receptor neuroativo	4 (40,00%)	0,018
	hsa05033: Dependência de nicotina	2 (20,00%)	0,018

Abreviações: n = número; KEGG = Enciclopédia de Genes e Genomas de Quioto.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Os genes do módulo *Turquoise* foram enriquecidos principalmente em: via de interação ligante-receptor neuroativa; interação citocina e receptor da citocina; ciclo celular; meiose de oócitos; via de sinalização IL-17; sinapse dopaminérgica; transdução de sabor; sinapse GABAérgica; dependência de morfina; e dependência de nicotina. Os genes do módulo *Yellow* foram enriquecidos em via de interação ligante-receptor neuroativa e em dependência de nicotina.

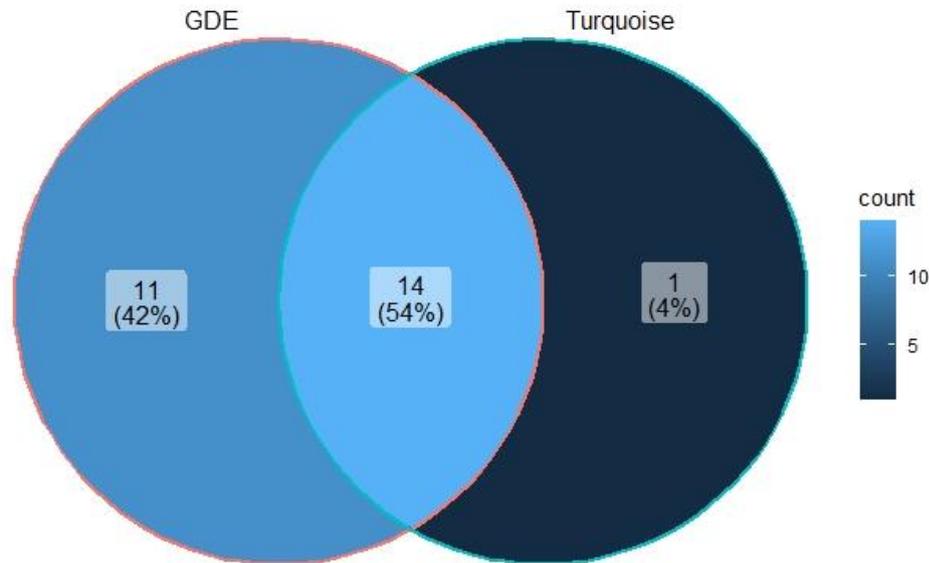
A análise dos termos do GO enriquecidos demonstrou similaridades entre alguns módulos. Na análise dos processos biológicos os módulos *Blue*, *Brown* e *Green* apresentaram genes enriquecidos relacionados ao sistema muscular. Enquanto que, os termos do GO enriquecidos no módulo *Turquoise* estavam mais relacionados ao ciclo celular. Os termos relacionados aos processos biológicos estão apresentados na Tabela S7, os relacionados às funções moleculares na Tabela S8 e os relacionados aos componentes celulares na Tabela S9 (APÊNDICE F).

2.3.7 Investigação integrada de genes relacionados às citocinas que foram enriquecidos nas análises anteriores

Nessa etapa foi realizada uma investigação integrada de genes enriquecidos em vias do KEGG relacionadas às citocinas das três análises de enriquecimento realizadas anteriormente (com todos os GDE, análise I e análise II).

Em um primeiro momento foram elaborados Diagramas de Venn para reconhecer genes em comum enriquecidos nas diferentes análises. Comparando os genes enriquecidos na via de sinalização IL-17 dos grupos GDE e módulo *Turquoise* da análise II 14 estavam sobrepostos: *CXCL10* (do inglês *C-X-C motif chemokine ligand 10*), *MMP1* (do inglês *matrix metalloproteinase 1*), *MMP3* (do inglês *matrix metalloproteinase 3*), *MMP9* (do inglês *matrix metalloproteinase 9*), *MMP13* (do inglês *matrix metalloproteinase 13*), *S100A8* (do inglês *S100 calcium binding protein A8*), *S100A9* (do inglês *S100 calcium binding protein A9*), *CCL7* (do inglês *C-C motif chemokine ligand 7*), *CCL11* (do inglês *C-C motif chemokine ligand 11*), *CCL20* (do inglês *C-C motif chemokine ligand 20*), *IL17C*, *MAPK15* (do inglês *mitogen-activated protein kinase 15*), *S100A7A* (do inglês *S100 calcium binding protein A7A*) e *MUC5B* (do inglês *mucin-5B*) (Figura 9).

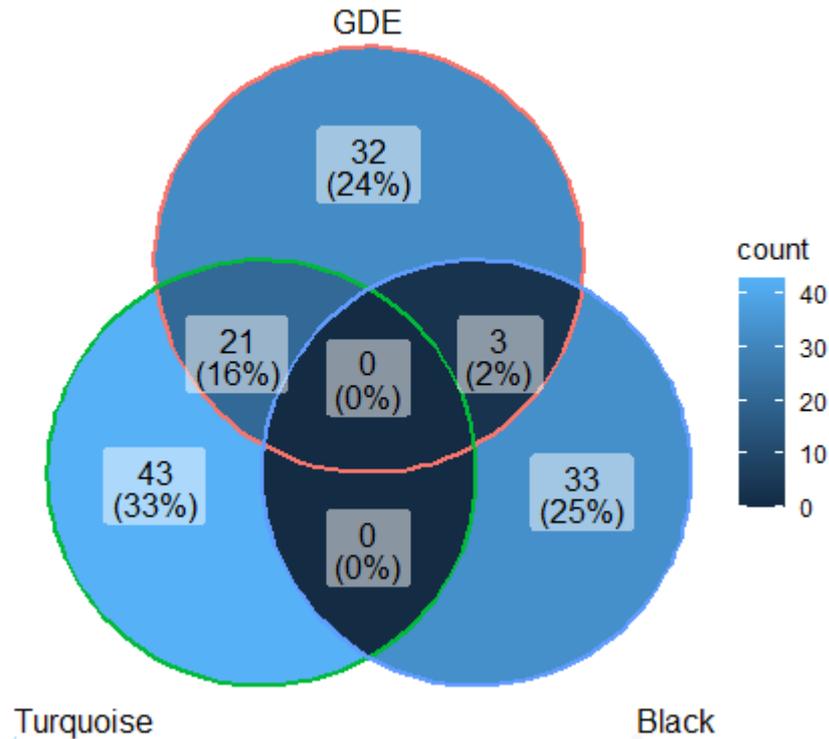
Figura 9 – Diagrama de Venn com os genes enriquecidos no KEGG na via de sinalização IL-17 de dois grupos: GDE e módulo *Turquoise* da análise II. Os dois conjuntos mostram uma sobreposição de 14 genes enriquecidos.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Comparando os genes enriquecidos na via interação citocina e receptor da citocina dos grupos GDE, módulo *Turquoise* da análise I e módulo *Black* da análise I nenhum estava sobreposto. Entre o grupo GDE e o módulo *Turquoise* da análise I 21 genes estavam sobrepostos: *CCL14* (do inglês *C-C motif chemokine 14*), *CCL16* (do inglês *C-C motif chemokine 16*), e *CCL21*, que são quimiocinas da subfamília CC; *CXCL2* (do inglês *C-X-C motif chemokine ligand 2*), *PF4* (do inglês *platelet factor 4*) e *PPBP* (do inglês *pro-platelet basic protein*) que são quimiocinas da subfamília CXC; *CNTFR* (do inglês *ciliary neurotrophic factor receptor*), *CSF3* (do inglês *colony stimulating factor 3*), *GHR* (do inglês *growth hormone receptor*), *IL6*, *IL13*, *LEP* (do inglês *leptina*), *LEPR* (do inglês *leptin receptor*), *LIFR* (do inglês *LIF receptor subunit alpha*) e *TSLP* (do inglês *thymic stromal lymphopoietin*); *IL17D*; *BMP2* (do inglês *bone morphogenetic protein 2*), *BMP3* (do inglês *bone morphogenetic protein 3*), *GDF10* (do inglês *growth differentiation factor 10*) e *ACVR1C* (do inglês *activin A receptor type 1C*) da família TGF- β e *IL33*. Entre o grupo GDE e o módulo *Black* da análise I 3 genes estavam sobrepostos: *CXCL9* (do inglês *C-X-C motif chemokine ligand 9*), quimiocina da subfamília CXC; *IL12B* e *IL21R* (Figura 10).

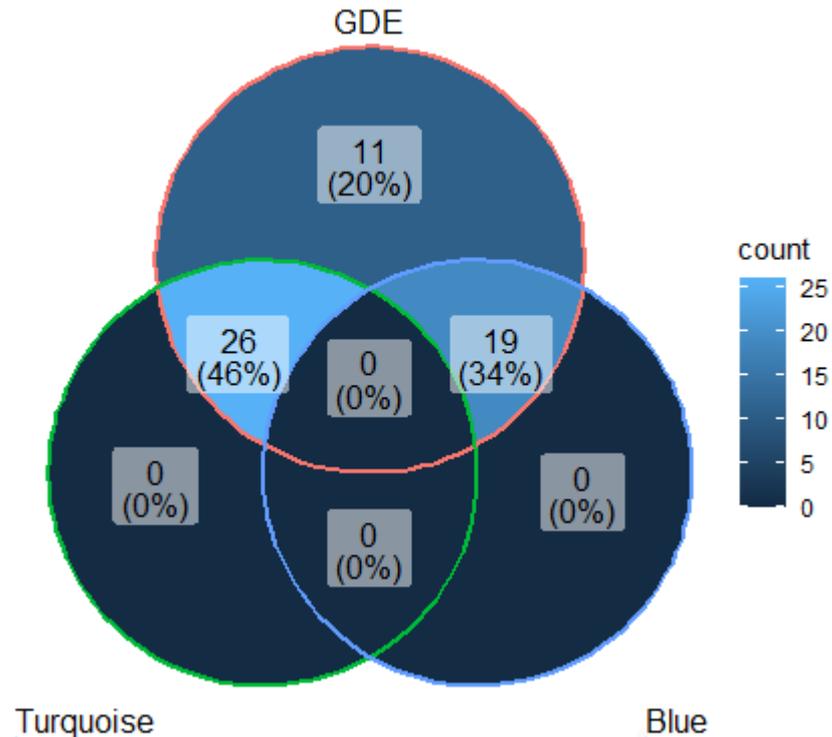
Figura 10 – Diagrama de Venn com os genes enriquecidos no KEGG em na via de interação citocina e receptor da citocina de três grupos: GDE, módulo *Turquoise* da análise I e módulo *Black* da análise I. Os três conjuntos não mostram uma sobreposição de genes enriquecidos. Entre os grupos GDE e módulo *Turquoise* da análise I ocorreu uma sobreposição de 21 genes enriquecidos e entre os grupos GDE e módulo *Black* da análise I ocorreu uma sobreposição de 3 genes enriquecidos.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Comparando os genes enriquecidos na via interação citocina e receptor da citocina dos grupos GDE, módulo *Turquoise* da análise II e módulo *Blue* da análise II nenhum estava sobreposto. Entre o grupo GDE e o módulo *Turquoise* da análise II 26 genes estavam sobrepostos: *CCR8* (do inglês *C-C motif chemokine receptor 8*), *CCL7*, *CCL11*, *CCL15* (do inglês *C-C motif chemokine ligand 15*), *CCL20*, *CXCL10*, *CXCL9*, *CXCL11* (do inglês *C-X-C motif chemokine ligand 11*), *IL9R*, *IL21R*, *EPO* (do inglês *eosinophil peroxidase*), *IL12B*, *IL24*, *IL19*, *IL20*, *IFNB1*, *IL17C*, *BMPR1B* (do inglês *bone morphogenetic protein receptor type 1B*), *INHA* (do inglês *inhibin subunit alpha*), *INHBA* (do inglês *inhibin subunit beta A*), *GDF15* (do inglês *growth differentiation factor 15*), *BMP8A* (do inglês *bone morphogenetic protein 8a*), *TNFRSF9* (do inglês *TNF receptor superfamily member 9*), *TNFSF4* (do inglês *TNF superfamily member 4*) e *TNFRSF18* (do inglês *TNF receptor superfamily member 18*). Entre o grupo GDE e o módulo *Blue* da análise II 19 genes estavam sobrepostos: *CCL14*, *CCL16*, *CCL21*, *PF4*, *PPBP*, *CNTFR*, *CSF3*, *GHR*, *IL13*, *IL6*, *LEP*, *LEPR*, *LIFR*, *IL17D*, *ACVR1C*, *BMP2*, *BMP3*, *GDF10* e *IL33* (Figura 11).

Figura 11 – Diagrama de Venn com os genes enriquecidos na análise KEGG em via de interação citocina e receptor da citocina de três grupos: GDE, módulo *Turquoise* da análise II e módulo *Blue* da análise II. Os três conjuntos não mostram uma sobreposição de genes enriquecidos. Entre os grupos GDE e módulo *Turquoise* da análise II ocorreu uma sobreposição de 26 genes enriquecidos e entre os grupos GDE e módulo *Blue* da análise II ocorreu uma sobreposição de 19 genes enriquecidos.

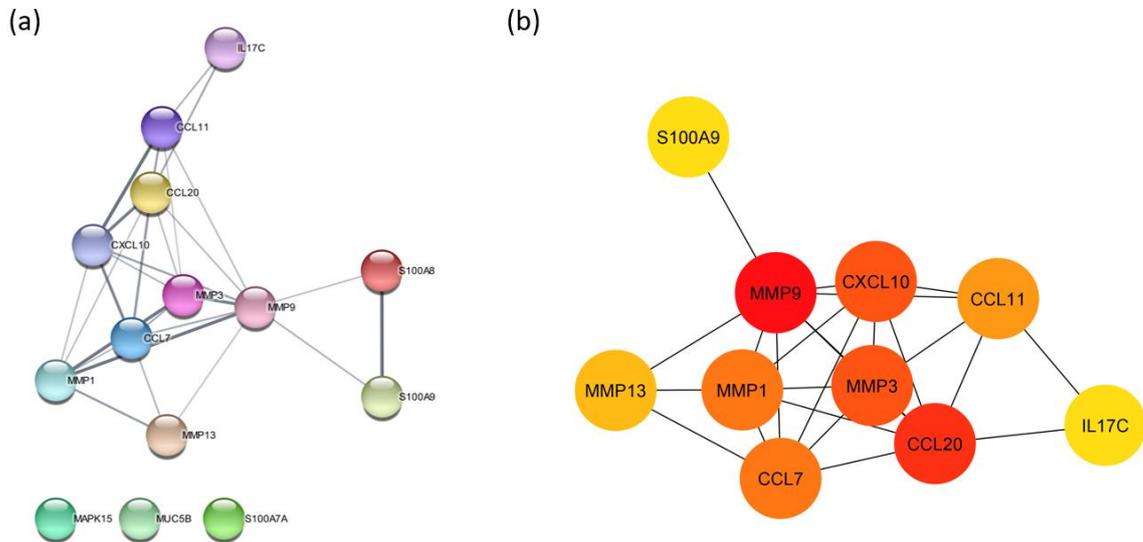


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Para extrair genes *hub* (genes com alta correlação em módulos candidatos) dos conjuntos sobrepostos nas vias enriquecidas foi realizada uma análise de bioinformática integrada. Em um primeiro momento esses genes foram submetidos a análise STRING e a rede de interação proteína-proteína (PPI, do inglês *Protein-Protein Interaction*) foi construída com o *Cytoscape*.

Na primeira geração de rede foram utilizados os genes sobrepostos da comparação da via de sinalização da IL-17 (entre os enriquecimentos de GDE e do módulo *Turquoise* da análise II) e foram obtidos 14 *nodes* (nós - proteínas) e 27 *edges* (arestas - interações) com escore de confiança $\geq 0,7$ (Figura 12a). A análise *CytoHubba* foi utilizada na sequência para avaliar a importância dos nós com o algoritmo MCC onde os dez principais genes foram selecionados como candidatos a genes *hub*: *CXCL10*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP9*, *MMP13*, *S100A9*, *CCL7*, *CCL11*, *CCL20* e *IL17C* (Figura 12b).

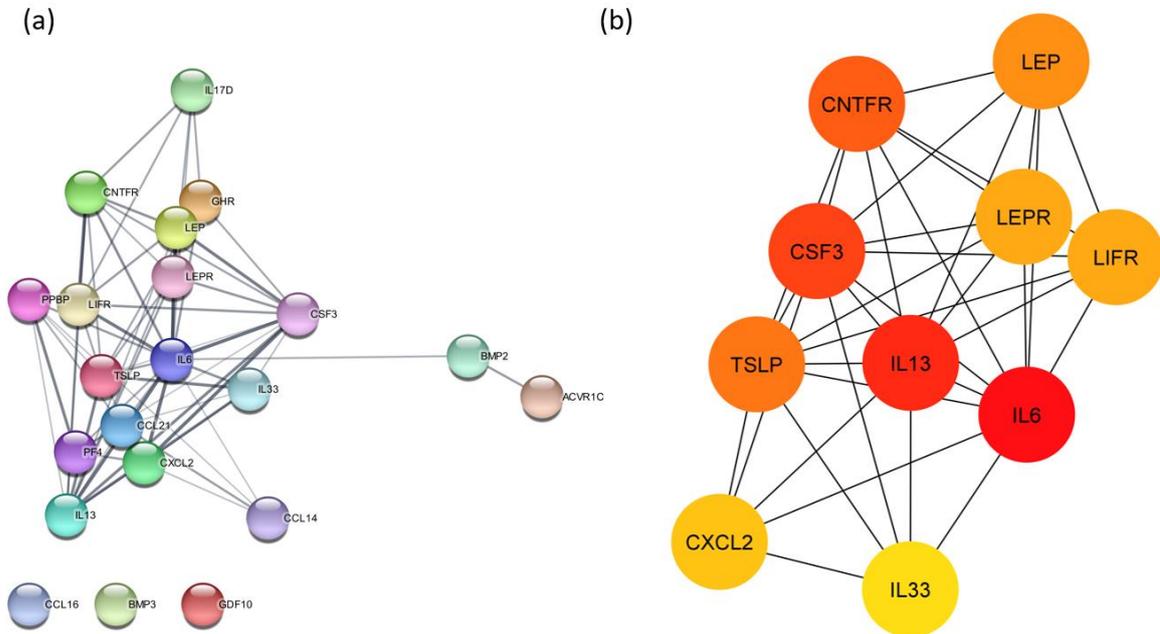
Figura 12 - Identificação de genes *hub* da via de sinalização da IL-17. (a) Análise de rede PPI. 14 *nodes* (nós - proteínas) e 27 *edges* (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. Cores distribuídas aleatoriamente. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes *hub* candidatos com base no algoritmo MCC. Genes coloridos em vermelho possuem uma maior importância na rede de interação e genes coloridos em amarelo uma menor importância na rede de interação.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Na segunda geração de rede foram utilizados os genes sobrepostos da comparação da via de interação citocina e receptor da citocina (entre os enriquecimentos de GDE e do módulo *Turquoise* da análise I) e foram obtidos 21 *nodes* (nós - proteínas) e 64 *edges* (arestas - interações) com escore de confiança $\geq 0,7$ (Figura 13a). A análise *CytoHubba* foi utilizada na sequência para avaliar a importância dos nós com o algoritmo MCC onde os dez principais genes foram selecionados como candidatos a genes *hub*: *CXCL2*, *CNTFR*, *CSF3*, *IL6*, *IL13*, *LEP*, *LEPR*, *LIFR*, *TSLP* e *IL33* (Figura 13b).

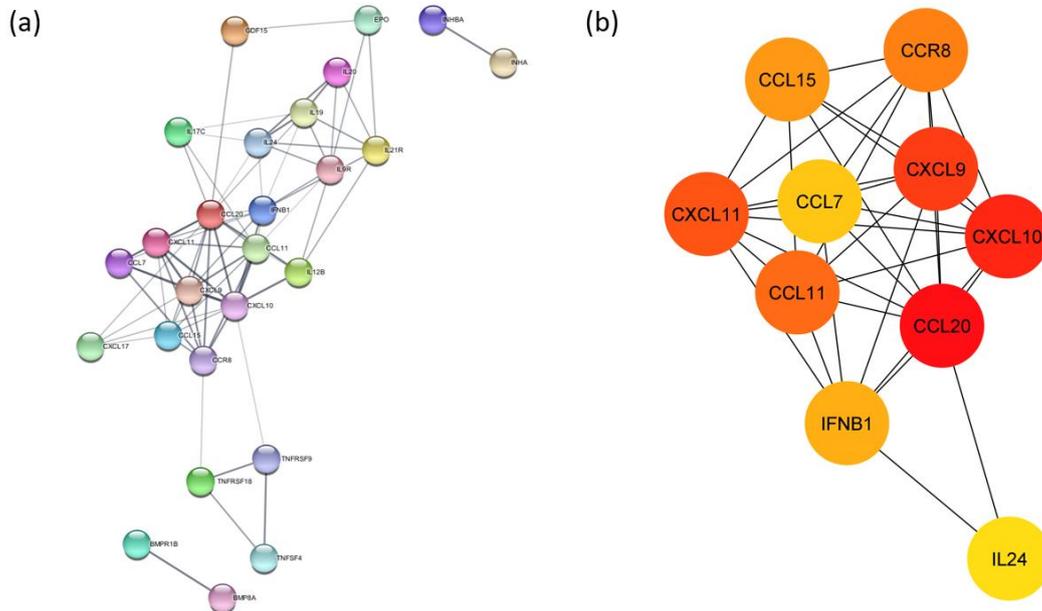
Figura 13 - Identificação de genes *hub* da via de interação citocina e receptor de citocina (comparação entre GDE e módulo *Turquoise* na análise I). (a) Análise de rede PPI. 21 *nodes* (nós - proteínas) e 64 *edges* (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes *hub* candidatos com base no algoritmo MCC.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Na terceira geração de rede foram utilizados os genes sobrepostos da comparação da via de interação citocina e receptor da citocina (entre os enriquecimentos de GDE e do módulo *Turquoise* da análise II) e foram obtidos 26 *nodes* (nós - proteínas) e 72 *edges* (arestas - interações) com escore de confiança $\geq 0,7$ (Figura 14a). A análise *CytoHubba* foi utilizada na sequência para avaliar a importância dos nós com o algoritmo MCC onde os dez principais genes foram selecionados como candidatos a genes *hub*: *CCR8*, *CCL7*, *CCL11*, *CCL15*, *CCL20*, *CXCL10*, *CXCL9*, *CXCL11*, *IL24* e *IFNB1* (Figura 14b).

Figura 14 - Identificação de genes *hub* da via de interação citocina e receptor de citocina (comparação entre GDE e módulo *Turquoise* na análise II). (a) Análise de rede PPI. 26 *nodes* (nós - proteínas) e 72 *edges* (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$. (b) Os dez principais genes foram selecionados como genes *hub* candidatos com base no algoritmo MCC.

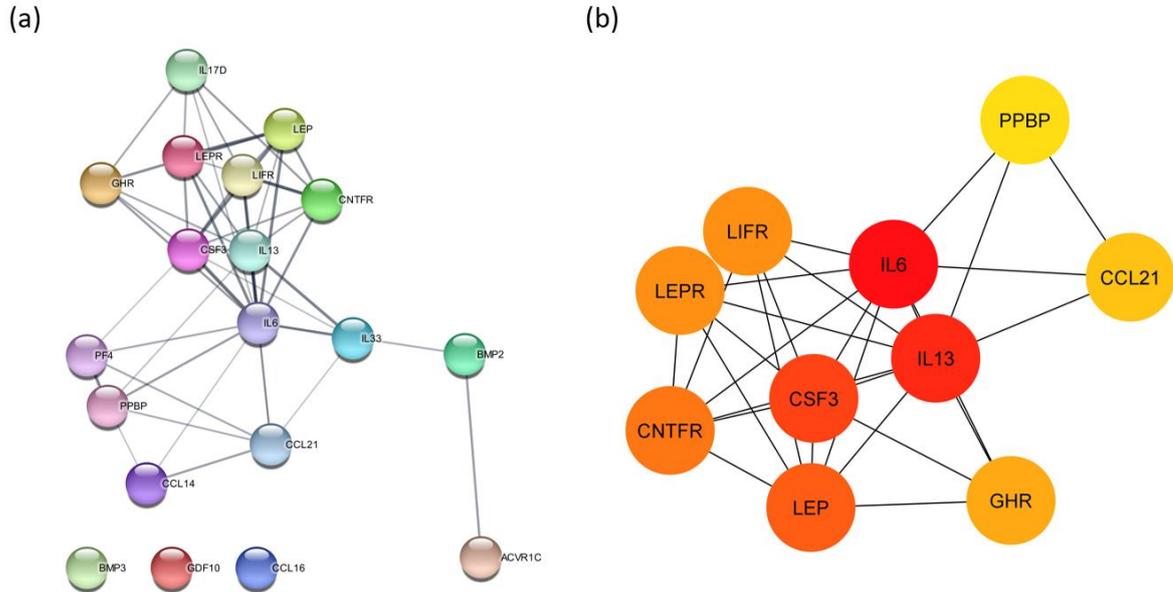


Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Na quarta geração de rede foram utilizados os genes sobrepostos da comparação da via de interação citocina e receptor da citocina (entre os enriquecimentos de GDE e do módulo *Blue* da análise II) e foram obtidos 19 *nodes* (nós - proteínas) e 47 *edges* (arestas - interações) com escore de confiança $\geq 0,7$ (Figura 15a). A análise *CytoHubba* foi utilizada na sequência para avaliar a importância dos nós com o algoritmo MCC onde os dez principais genes foram selecionados como candidatos a genes *hub*: *CCL21*, *PPBP*, *CNTFR*, *CSF3*, *GHR*, *IL13*, *IL6*, *LEP*, *LEPR* e *LIFR* (Figura 15b).

Figura 15 - Identificação de genes *hub* da via de interação citocina e receptor de citocina (comparação entre GDE e módulo *Blue* na análise II). (a) Análise de rede PPI. 19 *nodes* (nós - proteínas) e 47 *edges* (arestas - interações) foram obtidos com pontuação de confiança $\geq 0,7$.

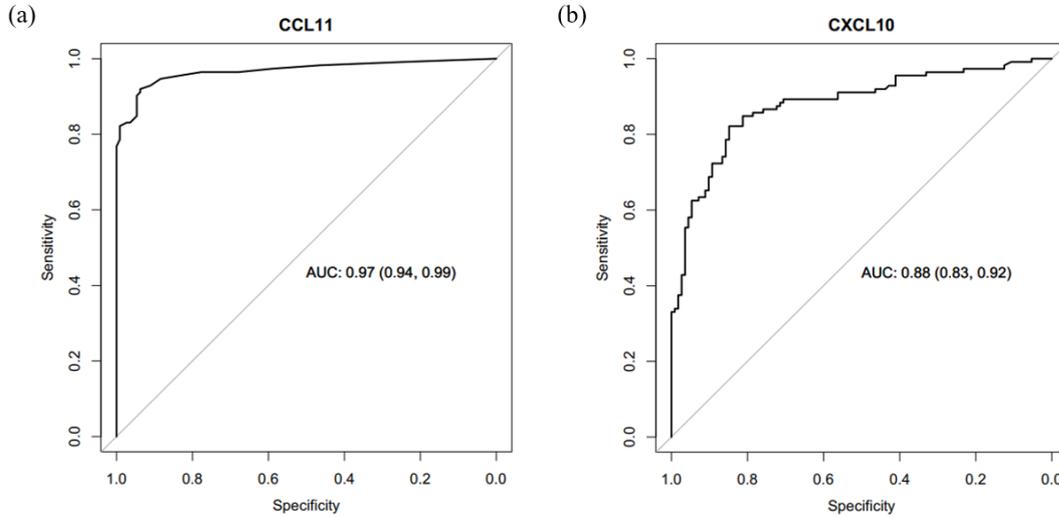
(b) Os dez principais genes foram selecionados como genes *hub* candidatos com base no algoritmo MCC.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

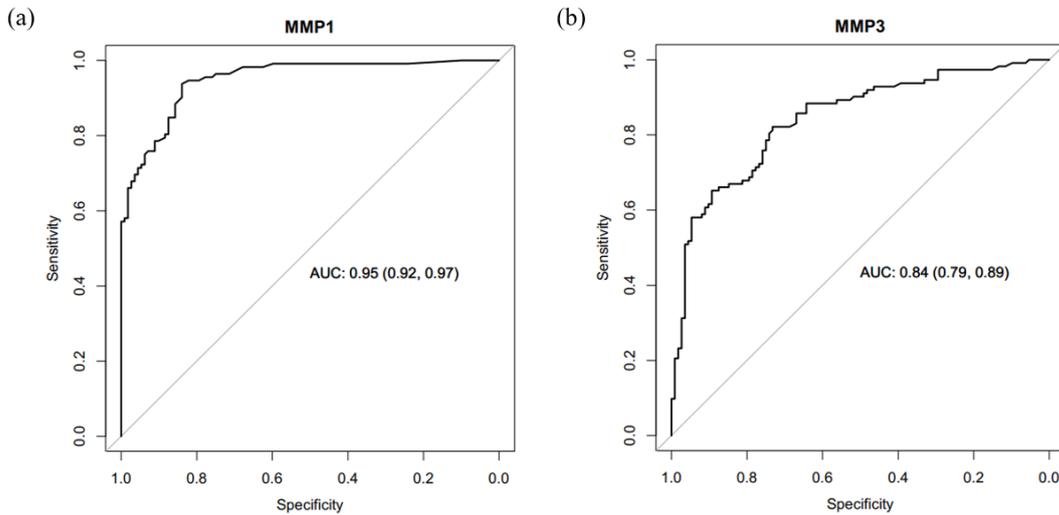
Posteriormente, foram feitas análises de curva ROC para os genes que apareciam sobrepostos (incluindo os genes *hub*). Com os resultados obtidos a partir das análises de enriquecimento das vias do KEGG dos GDE, da análise I de coexpressão e da análise II de coexpressão os genes que apareceram sobrepostos foram submetidos à análise de curva ROC. A intenção foi identificar possíveis genes associados às citocinas que teriam maior possibilidade de servir como assinatura molecular, diferenciando o tecido tumoral do tecido adjacente não tumoral. Para estes transcritos, foi gerada uma curva ROC. Quando analisamos os genes da via de sinalização da IL-17 encontramos 6 genes *hub* (Figuras 16 a 18) que atenderam ao critério de significância estatística, com uma AUC de $\geq 0,75$ e um intervalo de confiança de 95%. Todos os demais obtiveram uma AUC abaixo de 0,75 (APÊNDICE G (Figuras S1-S2)).

Figura 16 – Curva ROC de 2 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *CCL11*. (b) Curva ROC do gene *CXCL10*.



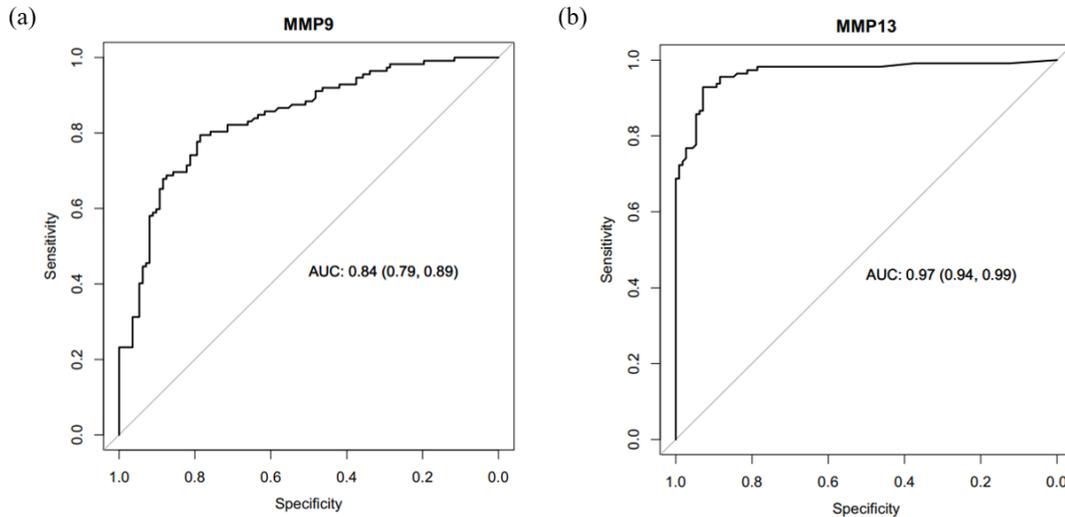
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 17 – Curva ROC de 2 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *MMP1*. (b) Curva ROC do gene *MMP3*.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

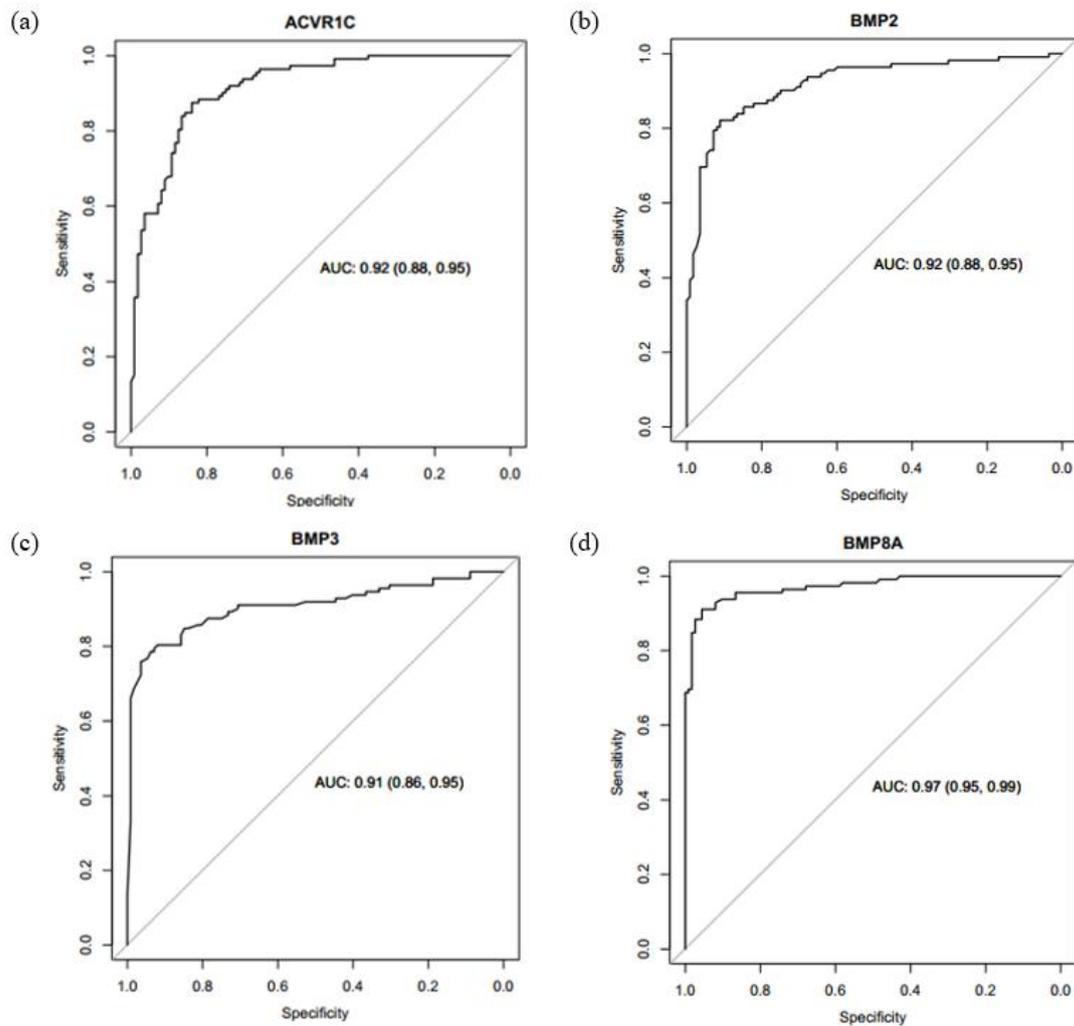
Figura 18 – Curva ROC de 2 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *MMP9*. (b) Curva ROC do gene *MMP13*.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

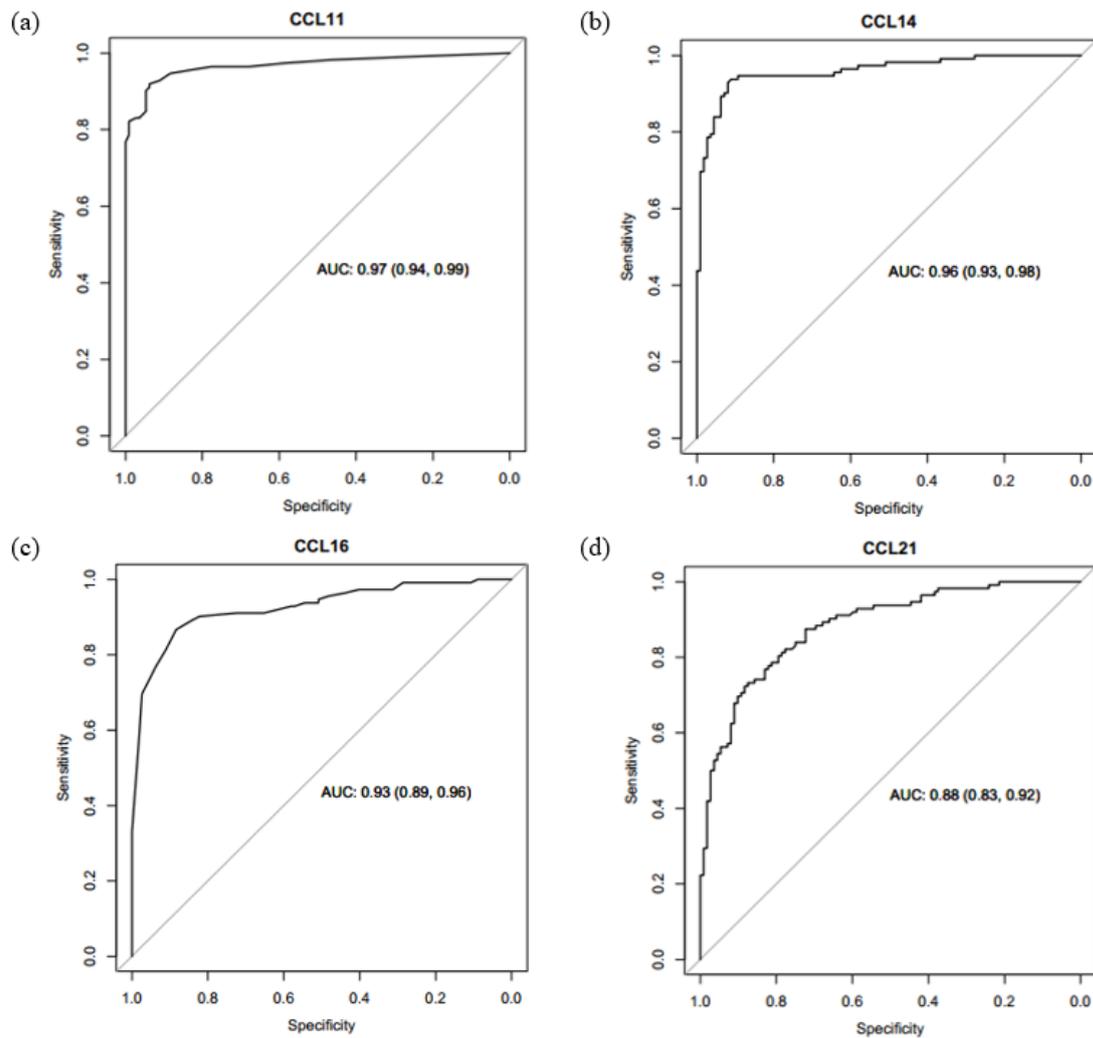
Quando analisamos os genes da interação citocina e receptor de citocina encontramos 34 (alguns genes *hub*) (Figuras 19 a 27) que atenderam ao critério de significância estatística, com uma AUC de $\geq 0,75$ e um intervalo de confiança de 95%. Todos os demais obtiveram uma AUC abaixo de 0,75 (APÊNDICE G (Figuras S3-S5)).

Figura 19 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *ACVR1C*. (b) Curva ROC do gene *BMP2*. (c) Curva ROC do gene *BMP3*. (d) Curva ROC do gene *BMP8A*.



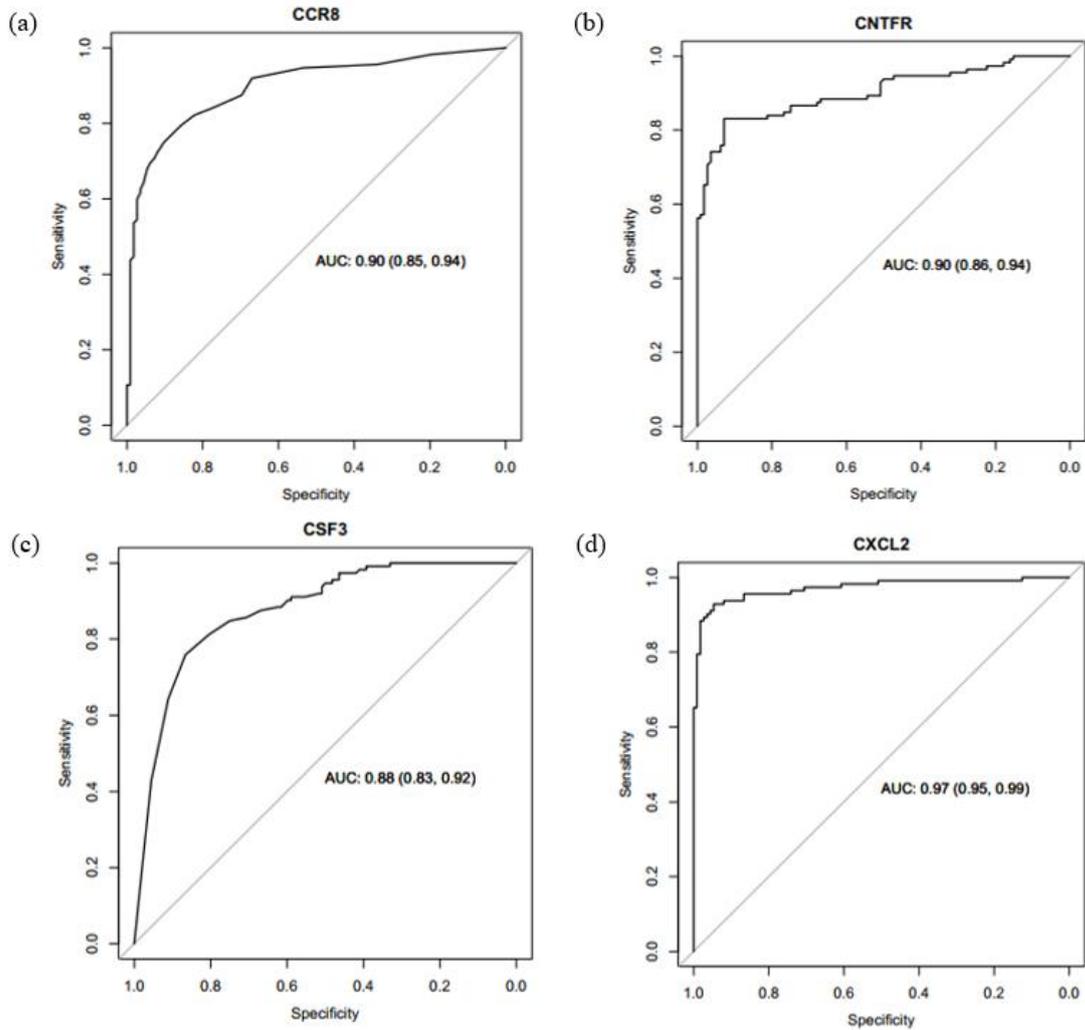
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 20 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *CCL11*. (b) Curva ROC do gene *CCL14*. (c) Curva ROC do gene *CCL16*. (d) Curva ROC do gene *CCL21*.



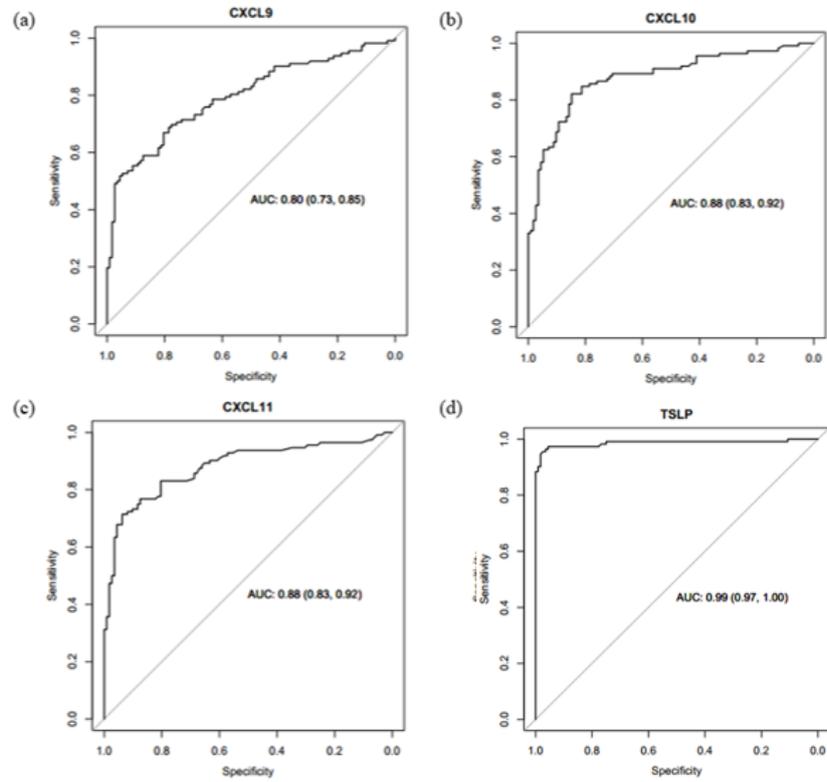
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 21 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *CCR8*. (b) Curva ROC do gene *CNTFR*. (c) Curva ROC do gene *CSF3*. (d) Curva ROC do gene *CXCL2*.



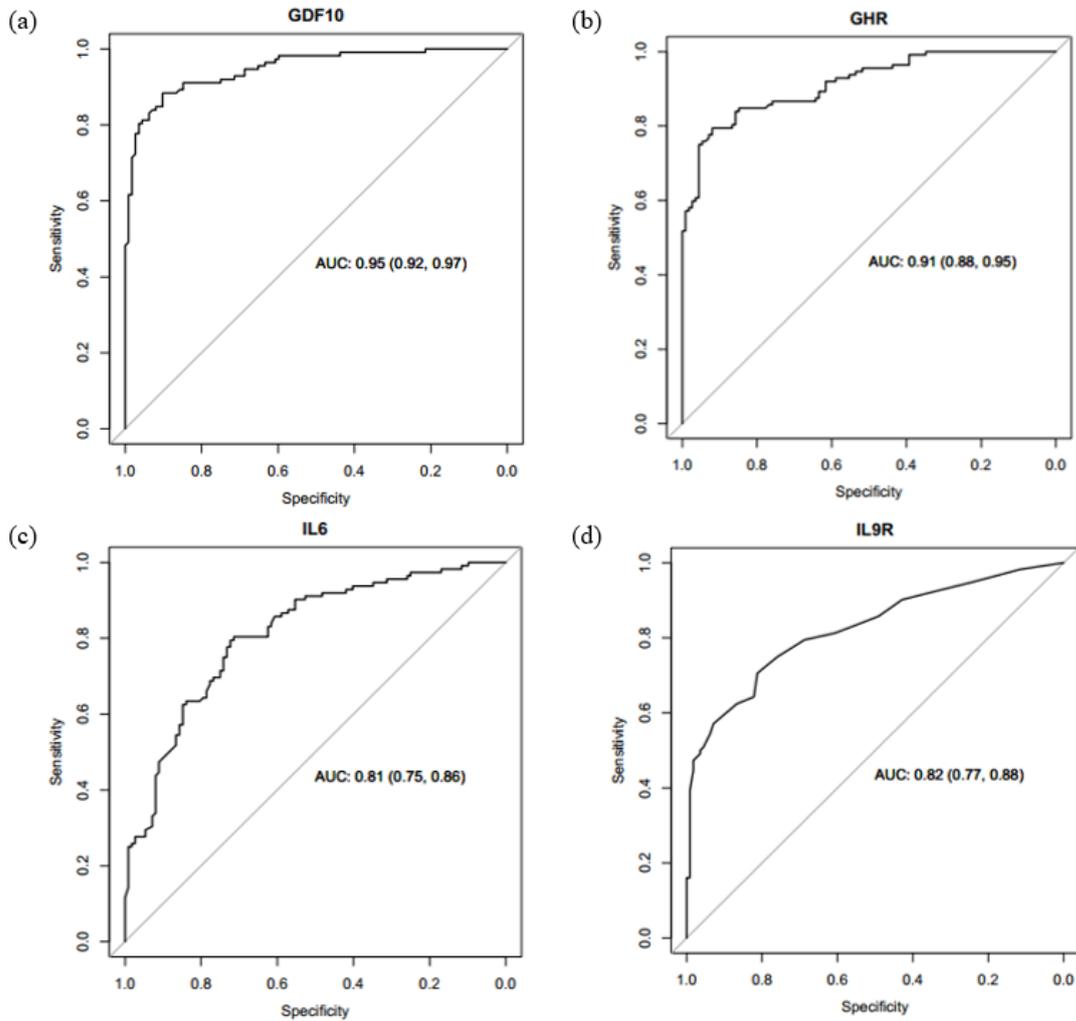
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 22 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *CXCL9*. (b) Curva ROC do gene *CXCL10*. (c) Curva ROC do gene *CXCL11*. (d) Curva ROC do gene *TSLP*.



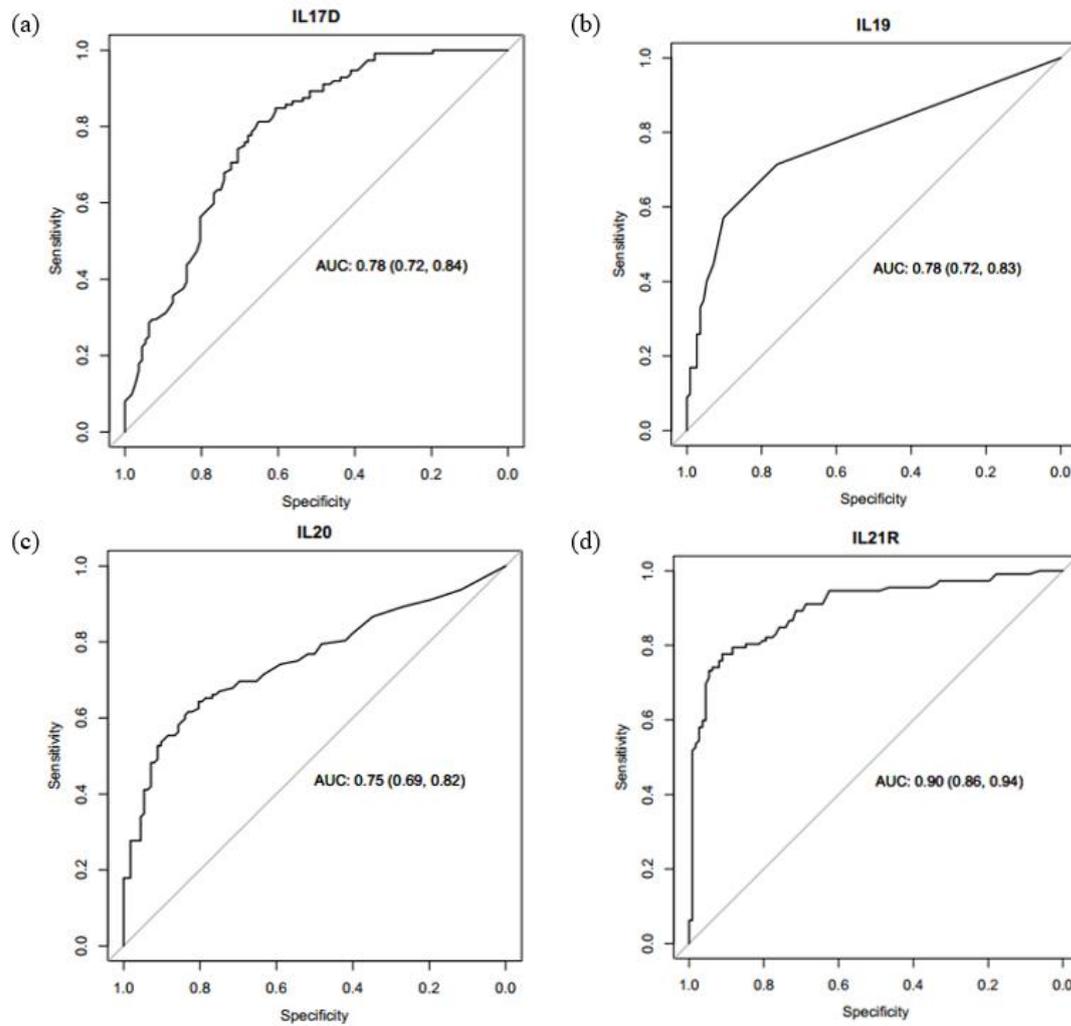
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 23 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *GDF10*. (b) Curva ROC do gene *GHR*. (c) Curva ROC do gene *IL6*. (d) Curva ROC do gene *IL9R*.



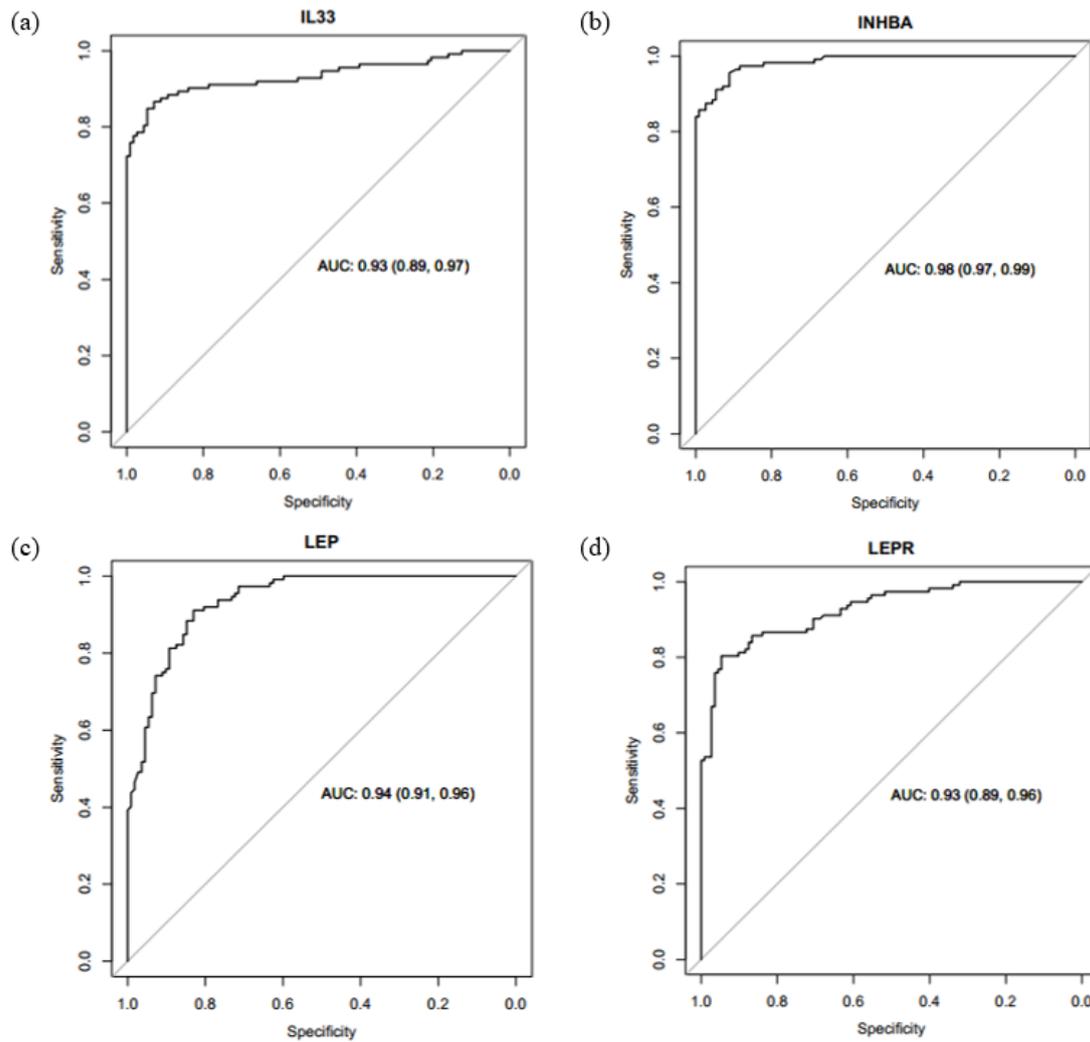
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 24 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *IL17D*. (b) Curva ROC do gene *IL19*. (c) Curva ROC do gene *IL20*. (d) Curva ROC do gene *IL21R*.



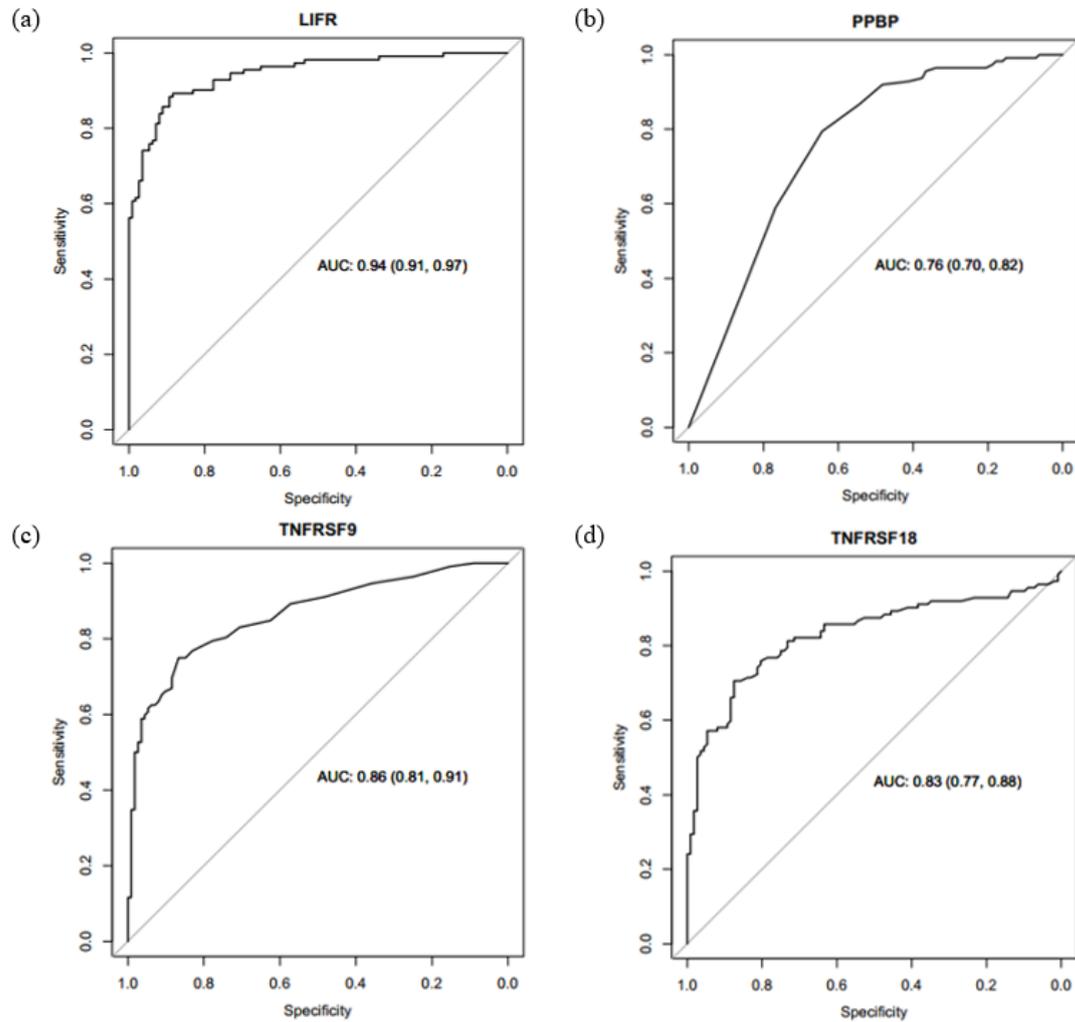
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 25 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *IL33*. (b) Curva ROC do gene *INHBA*. (c) Curva ROC do gene *LEP*. (d) Curva ROC do gene *LEPR*.



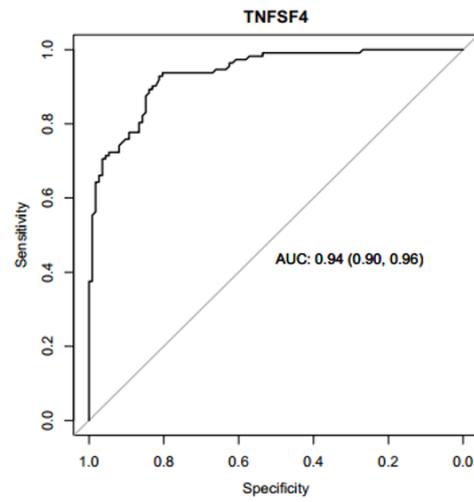
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 26 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *LIFR*. (b) Curva ROC do gene *PPBP*. (c) Curva ROC do gene *TNFRSF9*. (d) Curva ROC do gene *TNFRSF18*.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura 27 – Curva ROC do gene *TNFSF4* enriquecido na via de sinalização citocina-receptor de citocina, destacando-se o valor AUC. No eixo y a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x a especificidade (fração dos falsos negativos).



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

2.4 DISCUSSÃO

A identificação de biomarcadores com sensibilidade e especificidade para uso na detecção do tecido tumoral de CM pode ser utilizado para melhorar o diagnóstico, o prognóstico e auxiliar nas decisões terapêuticas. Nesse estudo, foi realizada uma análise integrada utilizando o perfil transcriptômico de mulheres com CM do TCGA. Os ensaios de enriquecimento funcional, de coexpressão e interação proteína-proteína permitiram identificar moléculas relacionadas às citocinas e receptores associadas ao desenvolvimento da doença.

A presente análise de expressão gênica foi realizada em amostras de tecido tumoral e tecido adjacente não tumoral das mesmas pacientes, que proporciona equilíbrio na heterogeneidade das amostras, evitando que sejam analisadas amostras com expressão excessivamente elevadas ou reduzidas sem seu respectivo controle de comparação. Além disso, reduz a possibilidade de influência de fatores externos às variações encontradas, de forma que para cada amostra normal existe uma tumoral sujeita às mesmas condições. Assim, a variação na expressão gênica pode ser confiavelmente relacionada às influências do ambiente tumoral.

O WGCNA tem sido amplamente utilizado na triagem de biomarcadores que predizem a progressão dos cânceres (LIU et al., 2021; NIEMIRA et al., 2020; SHAN et al., 2020; TIAN et al., 2020; VERNOCCHI et al., 2020; WAN et al., 2018; YANG et al., 2021; YE et al., 2020; YIN et al., 2021; ZHENG; ZHANG; ZHONG, 2021). A elaboração de duas análises de coexpressão (uma utilizando todos os transcritos iniciais – análise I e uma utilizando apenas os transcritos que estavam diferencialmente expressos – análise II) possibilitou uma visão ampliada e comparativa de possíveis marcadores relacionados às citocinas no CM. A identificação dos grupos de módulos gênicos, representados por cores, permitiu a caracterização biológica através do enriquecimento para processos e vias metabólicas específicas relacionadas às citocinas, levando à inferência de que alguns genes possam estar relacionados ao desenvolvimento e manutenção do tumor no CM.

Nas diferentes análises de enriquecimento do KEGG realizadas no presente trabalho, duas vias relacionadas às citocinas foram observadas em comum. A via de interação citocina-receptor de citocina apareceu enriquecida na análise dos GDE, nos módulos *Black* e *Turquoise* da análise de coexpressão I e nos módulos *Blue* e *Turquoise* da análise de coexpressão II. E a via de sinalização da IL-17 apareceu enriquecida na análise de GDE e no módulo *Turquoise* da análise de coexpressão II.

A interação citocina-receptor de citocina é uma via do KEGG que apareceu enriquecida em todas as análises deste trabalho. Essa via contém quimiocinas, IL, IFN, TNF- α , TGF- β , entre outros fatores. As citocinas são moléculas que desempenham papéis críticos na regulação de uma ampla gama de funções normais, levando à proliferação, diferenciação e sobrevivência celular e podem ser liberadas em resposta à inflamação e também podem inibir o desenvolvimento e a progressão do câncer (DRANOFF, 2004; GOLDSTEIN; LASZLO, 1988). No presente trabalho, vários genes da via foram associados como bons marcadores para diferenciar tecido tumoral de tecido adjacente não tumoral.

Alguns estudos demonstraram que a via de interação citocina-receptor de citocina pode estar envolvida na formação do carcinoma hepatocelular (CALVISI et al., 2006; HSU et al., 2007; JIANG; HAO, 2018; NIWA et al., 2005). Um estudo de 2017 identificou uma assinatura de oito genes na via interação citocina e receptor de citocinas, que estava significativamente associada ao prognóstico de câncer colorretal (DONG et al., 2017). No presente estudo, identificamos assinatura de 33 genes nessa via que estão relacionadas ao tecido tumoral de pacientes com CM: *ACVR1C*, *BMP2*, *BMP3*, *BMP8A*, *CCL11*, *CCL14*, *CCL16*, *CCL21*, *CCR8*, *CNTFR*, *CSF3*, *CXCL2*, *CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL11*, *GDF10*, *GHR*, *IL6*, *IL9R*, *IL17D*, *IL19*, *IL20*, *IL21R*, *IL33*, *INHBA*, *LEP*, *LEPR*, *LIFR*, *PPBP*, *TNFRSF9*, *TNFRSF18*, *TNFSF4* e *TSLP*.

Com relação às citocinas e receptores da família TGF- β 6 genes apareceram enriquecidos na via e se mostraram bons marcadores para diferenciar tecido tumoral do tecido adjacente conforme as análises de curva ROC: *ACVR1C*, *BMP2*, *BMP3* e *GDF10*, *INHBA* e *BMP8A*. O transcrito *ACVR1C* estava subexpresso nas amostras tumorais do presente estudo, resultado que vai de encontro aos relacionados na literatura. A superexpressão do transcrito desse receptor de citocinas foi observada anteriormente em retinoblastomas invasivos (ASNAGHI et al., 2019) e ao crescimento e adesão tumoral no CM (HU et al., 2017). Os transcritos *BMP2* e *BMP3* também foram observados como subexpressos nas amostras tumorais. Em um estudo anterior a alta expressão de *BMP2* foi observada em carcinoma de mama invasivo (HUANG et al., 2017) e com relação ao *BMP3* um estudo identificou que níveis elevados do mRNA da citocina foram associados a uma melhor sobrevida global de pacientes com CM (KATSUTA et al., 2019).

O transcrito da citocina *GDF10* também apareceu subexpresso nas amostras tumorais. Uma análise, recentemente publicada, vai ao encontro desse resultado, onde a regulação negativa de *GDF10* foi relatada em diferentes subtipos de CM (RAHMAN et al., 2020). Outro estudo com amostras de CM triplo-negativo mostrou que a proteína *GDF10* atua como um supressor de tumor nas células epiteliais mamárias, limitando a proliferação (ZHOU et al.,

2019). Já os transcritos INHBA e BMP8A estavam superexpressos nas amostras tumorais quando comparadas com o tecido adjacente não tumoral. Um estudo também identificou a alta expressão do mRNA de INHBA em tecido tumoral de mama quando comparado ao tecido adjacente não tumoral (WANG et al., 2016). Quanto ao transcrito BMP8A, um estudo relacionou a superexpressão com uma pior sobrevivência de pacientes com CM (KATSUTA et al., 2019; SUI et al., 2021).

Com relação às quimiocinas e seus receptores, 5 genes da subfamília CC apareceram enriquecidos na via e se mostraram bons marcadores para diferenciar tecido tumoral do tecido adjacente conforme as análises de curva ROC: *CCR8*, *CCL11*, *CCL14*, *CCL16* e *CCL21*. O *CCR8* foi observado com alta expressão no tecido tumoral quando comparado ao tecido adjacente não tumoral no presente estudo. A alta expressão do receptor de quimiocinas em células T reguladoras do ambiente tumoral de CM foi relatada e associada à doença (PLITAS et al., 2016). *CCL11* também foi observado superexpresso no presente estudo. A sinalização de *CCL11* está envolvida na regulação do microambiente tumoral e na progressão do câncer e a proteína foi observada superexpressa em CM (WANG; HUANG, 2020).

Por outro lado, os transcritos das quimiocinas *CCL14*, *CCL16* e *CCL21* estavam subexpressos nas amostras tumorais quando comparadas com o tecido adjacente não tumoral no presente estudo. *CCL14* e *CCL16* interagem com o mesmo receptor (*CCR1*, do inglês *C-C motif chemokine receptor 1*) e são importantes nas infecções virais. Em referência aos cânceres, um estudo observou que a superexpressão do transcrito *CCL14* levou à inibição do crescimento de tumor hepatocelular em camundongos (ZHU et al., 2019a), o que está de acordo com o observado no presente estudo, enquanto que o *CCL16* estava superexpresso em linhagens de CM e também foi relacionado com um pior prognóstico em camundongos (SHEN et al., 2021), resultado que vai de encontro ao encontrado pelo presente estudo. A molécula de *CCL21* foi analisada em um estudo de 2020 com CM, onde verificou-se que a sua superexpressão estava relacionada com um bom prognóstico, atuando para prevenir o crescimento tumoral (CHEN et al., 2020a).

Com relação às quimiocinas da subfamília CXC, 5 genes apareceram enriquecidos e se mostraram bons marcadores para diferenciar tecido tumoral do tecido adjacente conforme as análises de curva ROC: *CXCL2*, *CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL11* e *PPBP*. Os transcritos *CXCL9* e *CXCL10* estavam superexpressos nas amostras tumorais do presente estudo. A alta expressão desses transcritos foi relatada, em um estudo anterior, associada a um melhor prognóstico em

pacientes com CM (LI et al., 2020). A CXCL11 foi observada superexpressa nas amostras tumorais da presente análise e também em câncer de cólon (CAO et al., 2021).

Por outro lado, os transcritos de CXCL2 e PPBP foram observados como subexpressos no tecido tumoral do presente trabalho, diferentemente de resultados com câncer de outros estudos. Com relação ao CXCL2 foi observado sua alta expressão em câncer de ovário em comparação com tecido adjacente não tumoral (ZHANG et al., 2021). O PPBP foi observado com expressão aumentada em tecidos de colangiocarcinoma em comparação com tecidos normais adjacentes (GUO et al., 2017).

Com relação às citocinas e receptores da família TNF- α , 3 genes apareceram enriquecidos na via e se mostraram bons marcadores para diferenciar tecido tumoral do tecido adjacente conforme as análises de curva ROC: *TNFRSF9*, *TNFRSF18* e *TNFSF4*. Os 3 transcritos apareceram superexpressos no tecido tumoral na presente análise de expressão diferencial. Com relação ao TNFRSF9, um estudo evidenciou que este auxilia a promover a metástase óssea do CM, aumentando a migração e diferenciação de osteoclastos de monócitos (JIANG et al., 2019). Enquanto que a expressão aumentada do transcrito TNFRSF18 foi observada em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (LECERF et al., 2019). Com relação ao TNFSF4, recentemente um estudo publicou dados sobre suas características oncogênicas no CM. A alta expressão do mRNA da citocina foi observada em todos os tipos de CM, e essa alteração foi associada a uma menor sobrevida global livre de doença (LI et al., 2021).

Considerando a família das IL, 14 genes apareceram enriquecidos na via e se mostraram bons marcadores para diferenciar tecido tumoral do tecido adjacente conforme as análises de curva ROC: *CNTFR*, *IL6*, *LIFR*, *CSF3*, *GHR*, *IL9R*, *IL21R*, *LEP*, *LEPR*, *TSLP*, *IL17D*, *IL19*, *IL20* e *IL33*. O transcrito do IL-9R apareceu superexpresso nas amostras tumorais no presente estudo e esse resultado está de acordo com outros encontrados na literatura. Em um estudo com câncer endometrial o receptor também foi relatado como superexpresso em amostras tumorais (TONG et al., 2020). Analisando a expressão proteica, um estudo com CM observou a superexpressão, tanto do receptor como de seu ligante, no tecido tumoral (DING et al., 2019). Outro transcrito de receptor de IL encontrado superexpresso nas amostras tumorais foi IL-21R. Em câncer gástrico, a expressão da molécula foi relatada como tendo um papel oncogênico na tumorigênese (YAN et al., 2019). Em linhagens de CM foi observado que o silenciamento de IL-21R suprimiu a proliferação celular (WANG et al., 2015).

Os transcritos da IL-19 e a IL-20 apareceram superexpressos nas amostras tumorais do presente estudo. A IL-19 tem um efeito autócrino nas células do CM, promovendo

diretamente a proliferação e migração e indiretamente fornecendo um microambiente para a progressão do tumor (CHEN et al., 2013). Da mesma forma, a alta expressão de IL-20 e de seus receptores em tecido tumoral de mama foi associada a um desfecho clínico ruim (HSU et al., 2012).

A expressão positiva de CNTFR foi correlacionada com a expressão de RE em linhagens celulares de CM em um estudo em 1997, sugerindo que as moléculas podem ser co-reguladas (DOUGLAS et al., 1997). Em uma análise de bioinformática, o gene *CNTFR* foi relatado como parte de uma assinatura prognóstica com outros sete genes para análise de sobrevida global em câncer de células escamosas da laringe (CHEN et al., 2020b). No presente trabalho o transcrito do CNTFR estava subexpresso nas amostras tumorais de CM, quando comparadas com as amostras de tecido adjacente não tumoral.

Considerando o transcrito IL-6, este estava subexpresso nas amostras tumorais de CM, quando comparadas com as amostras de tecido adjacente não tumoral. Na literatura, encontra-se dados de efeitos contraditórios dessa citocina. Alguns estudos relataram que a proteína IL-6 inibiu a proliferação de linhagens celulares de CM (BADACHE; HYNES, 2001; DANFORTH; SGAGIAS, 1993). Outro estudo identificou que a expressão da proteína não tem efeito sobre a proliferação celular de linhagens de CM (SUSUMU HONMA et al., 2002). Ainda, um estudo descreveu que altos níveis séricos de IL-6 em pacientes com CM estão associados a um prognóstico ruim (SANGUINETTI et al., 2015).

Outro transcrito que apareceu subexpresso nas amostras tumorais do presente estudo foi o LIFR. Esse resultado confirma dados de um estudo com mulheres indianas, onde foi observada a baixa expressão do mRNA nas amostras tumorais quando comparadas as amostras normais adjacentes, e consequente baixa expressão da proteína (ABDUL et al., 2019). O mRNA de LIFR também é subexpresso em uma variedade de cânceres humanos e é relatado como supressor metastático de CM (HUYTON et al., 2007; IORNS et al., 2012; SALM et al., 2015). O CSF3 também apareceu nas análises de expressão diferencial como subexpresso. Em um trabalho com câncer de cólon e reto a expressão de CFS3 e de seu receptor foi observada alta em alguns subtipos moleculares (APRYL S. SAUNDERS et al., 2021).

O GHR também foi encontrado, no presente trabalho, como subexpresso nas amostras de tecido tumoral, e esse resultado vai de encontro a outros relatados na literatura. A superexpressão do transcrito de GHR foi relacionada à risco alto e intermediário de recorrência em pacientes com CM (BELLA; SCANFERLATO; COLORI, 2018). Outra análise revelou que

o GHR estava mais expresso no tecido tumoral de pacientes com CM quando comparado com o tecido adjacente não tumoral (GEBRE-MEDHIN et al., 2001).

Os transcritos das moléculas LEP e LEPR estavam subexpressos no tecido tumoral, no presente estudo. Alguns estudos relacionaram a alta expressão de LEP com um mau prognóstico em diferentes tipos de câncer, incluindo o CM (GUI et al., 2017; LIPSEY et al., 2016). Em contraste, uma metanálise revelou que os baixos níveis de LEP estão diretamente relacionados com a progressão do CM (JIN et al., 2021). Quanto ao receptor, sua alta expressão em tecido de CM foi relacionada com um prognóstico ruim das pacientes (MIYOSHI et al., 2006). A TSLP também estava subexpressa no presente estudo no tecido tumoral. Em um estudo de 2016 os autores relataram que a molécula não foi encontrada nem em células hematopoiéticas e nem em células do estroma do microambiente do tumor primário em CM (GHIRELLI et al., 2016). Um outro estudo que investigou os fatores que promovem o microambiente em tumores de mama descobriu que o TSLP é produzido diretamente por células tumorais em pacientes com CM (PEDROZA-GONZALEZ et al., 2011).

O transcrito da IL-33 apareceu subexpressa nas amostras tumorais. Em termos de mau prognóstico, níveis elevados da proteína IL-33 foram detectados no soro e tumores de pacientes com CM (LIU et al., 2014). Outra IL que apareceu menos expressa no tecido tumoral no presente estudo foi a IL-17D (mais explorada em um parágrafo posterior).

Outra via do KEGG enriquecida nas análises do presente estudo que é relacionada às citocinas foi a via de sinalização IL-17, que inclui as interações das proteínas da família da interleucina 17 (IL-17), pertencente à resposta das células T CD4+*helper*17 (Th17) (LANGRISH et al., 2005). As células Th17 têm um papel destacado em muitas doenças onde a inflamação está presente, como o CM, por meio da produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-17 (SEGURA et al., 2013). A família de citocinas IL-17 e seus receptores desempenham funções cruciais nas respostas imunológicas normais do hospedeiro, participando tanto da resposta inflamatória aguda quanto da crônica (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2019). A expressão desregulada de citocinas e de receptores dessa família tem sido associada a muitas doenças humanas, principalmente inflamação e câncer (MCGEACHY; CUA; GAFFEN, 2019). Em uma revisão recente sobre o papel das citocinas da via de sinalização da IL-17 no CM os autores concluíram que os efeitos promotores de câncer de IL-17A, IL-17B e IL-17RB são relativamente claros, e seus inibidores podem ser sintetizados como drogas direcionadas para tratar pacientes com CM no futuro (SONG; WEI; LI, 2021).

A IL-17 foi primeiramente caracterizada em 1993 (ROUVIER et al., 1993) e hoje é chamada de IL-17A. Posteriormente outros membros da família de citocinas foram descobertos:

IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (também chamada de IL-25) e IL-17F (KOLLS; LINDÉN, 2004). As citocinas da família IL-17 compartilham 16-50% de identidade de aminoácidos com IL-17A, sendo a IL-17F a mais semelhante (50%) e IL-17E a mais divergente (16%) (FOSSIEZ et al., 1996; GERHARDT et al., 2009). Cada membro da família IL-17 sinaliza através de uma família específica de receptores denominados receptores de interleucina-17 (IL-17R) para induzir a sinalização em suas células-alvo (MOSELEY et al., 2003). A maioria desses complexos são heterodiméricos e consistem na subunidade IL-17RA expressa de forma ubíqua e em uma segunda subunidade específica do ligante (IL-17RB-RE) (RICKEL et al., 2008; SONG et al., 2014; TOY et al., 2006). O receptor da IL-17D permanece desconhecido.

A IL-17A é uma citocina pró-inflamatória que possui papel essencial na defesa do hospedeiro contra infecções microbianas e está implicada em várias condições inflamatórias, como doenças autoimunes e câncer (GU; WU; LI, 2013; OUYANG; KOLLS; ZHENG, 2008). Ela atua nas células apresentadoras de antígeno, como macrófagos e células dendríticas, induzindo a produção de citocinas e quimiocinas e recrutando neutrófilos (GUGLANI; KHADER, 2010; LINDÉN; LAAN; ANDERSON, 2005; YU et al., 2007). Embora produzida principalmente pelas células T, a IL-17A ativa muitos dos eventos sinalizados por citocinas da resposta imune inata, tais como: TNF- α e IL-1 β , sendo considerada uma molécula de ligação entre essa resposta e a resposta imune adaptativa. A IL-17 também regula a expressão do fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF, do inglês *granulocyte colony-stimulating-factor*) e IL-6 (KOLLS; LINDÉN, 2004).

Quando a IL-17A interage com o complexo de receptor IL-17RA/ IL-17RC duas vias de sinalização podem ser ativadas. A sinalização canônica induz mecanismos transcricionais e pós-transcricionais envolvidos na autoimunidade, hipersensibilidade e reprogramação metabólica dos tecidos linfoides. A via canônica ativa ACT1 (do inglês *adaptor protein CIKS*), o que leva à ativação de TRAF6 (do inglês *TNF receptor-associated factor 6*). Segue a ativação das vias NF- κ B (do inglês *nuclear factor kappa B*) e MAPK (do inglês *mitogen-activated protein kinase*). Em última análise, isso leva à transcrição de genes da resposta inflamatória como *CXCL10*, *MMP1*, *MMP3*, *MMP9* e *MMP13* que nas análises do presente estudo apareceram superexpressos.

No contexto tumoral a alta expressão de CXCL10 foi associada a um melhor prognóstico em pacientes com CM (LI et al., 2020). As moléculas MMP1, 3, 9 e 13 são enzimas que desempenham papéis importantes em vários processos fisiológicos e patológicos e são investigadas no CM. A alta expressão do mRNA MMP1 está associada ao aumento do

crescimento de CM e metástases e também pode predizer mau prognóstico (SHEN et al., 2017) e seu silenciamento inibe o comportamento maligno das células tumorais *in vitro* (WANG et al., 2019). Em relação à MMP3, um estudo identificou que a alta expressão da proteína foi observada em tecidos tumorais de mama (MEHNER et al., 2015). A expressão elevada da proteína MMP9 no CM é um preditor de menor sobrevida do paciente (JOSEPH et al., 2020). A expressão do transcrito MMP13 foi significativamente maior nos tecidos cancerosos da mama em comparação com os tecidos normais da mama e seus níveis elevados parecem estar relacionados à detecção positiva de células tumorais em linfonodos - entre pacientes com CM (KOTEPUI et al., 2016). A alta expressão dos transcritos MMP1, 3, 9 e 13 juntos pode servir como uma assinatura gênica para diferenciar o tecido do tumor da mama do adjacente não tumoral e pode ser explorado como um tratamento plausível através, por exemplo, de silenciamento gênico.

A outra via de sinalização possível de ser ativada pela interação de IL-17A e seu completo de receptor é a sinalização não canônica, que atua em sinergia com outros sistemas receptores e é principalmente responsável pelo reparo e regeneração do tecido. A via não canônica é ativada e recruta TRAF2 e TRAF5. Em seguida, moléculas de estabilização de mRNA são ativadas, e em paralelo, fatores desestabilizadores, são inibidos. Ao final da via, esta ativação leva, assim como a via canônica, a produção de elementos inflamatórios como os observados superexpressos no presente estudo e que podem estar relacionados à progressão de CM. Pode-se concluir, então que ambos os mecanismos (via canônica e não canônica) participam da progressão de tumores (BREVI et al., 2020; LI et al., 2019; MONIN; GAFFEN, 2017).

Com relação ainda à IL-17A, suas expressões gênica e proteica desreguladas têm sido associadas às doenças humanas, inclusive cânceres (BASTID et al., 2020), mas o impacto em contextos tumorais ainda está pouco elucidado. Uma revisão sistemática e meta-análise investigou o papel da IL-17A e concluiu que a citocina promove a tumorigênese (PUNT et al., 2015).

Resultados de alguns estudos suportam um papel pró-tumoral de IL-17A em CM. Em um modelo murino com CM triplo negativo os autores observaram que o nível da proteína no ambiente tumoral estava aumentado e que esta estimula o crescimento tumoral e o processo de angiogênese (DU et al., 2012). Em mais uma investigação com CM triplo negativo em linhagens celulares observou-se que a citocina IL-17A é superexpressa no ambiente tumoral e que está implicada na angiogênese tumoral (QIAN et al., 2020). Uma pesquisa utilizando uma linhagem celular de CM identificou que a IL-17A promoveu o desenvolvimento do tumor e

inibiu diretamente a apoptose (NAM et al., 2008). Outro estudo observou, pela primeira vez, que a IL-17A sérica é regulada positivamente em pacientes com CM e que os níveis mais elevados estão associados com desfechos clínicos ruins (KAWAGUCHI et al., 2019). Uma investigação por meio de imuno-histoquímica constatou o aumento da expressão de IL-17A em tumores mamários malignos e metastáticos de modelos caninos (BUJAK et al., 2020).

A presença ativa de IL-17A e IL-17F nos processos inflamatórios desencadeia a sinalização de IL-6, ativação da via inflamatória NF- κ B e via de sinalização do fator de transcrição STAT3, que conseqüentemente desempenha um papel fundamental na indução da inflamação aguda e, posteriormente, reparo de tecidos, inflamação crônica e, eventualmente, no desenvolvimento de muitos tipos de cânceres (DE SIMONE et al., 2015). Os transcritos IL-17A e IL-17F não foram observados no presente estudo com expressão diferencial entre os tecidos tumoral e adjacente não tumoral, mas em estudos anteriores já foram relatadas funções pró tumorais e as moléculas já foram alvo de neutralização em ensaios clínicos. Já as outras citocinas da família IL-17 foram citadas com funções pró e antitumorais e não foram utilizadas em ensaios clínicos no contexto do câncer (BRIUKHOVETSKA et al., 2021).

O transcrito IL-17B não foi enriquecido em nenhuma via do KEGG do presente estudo, mas foi observado subexpresso nas amostras tumorais quando comparado com amostras do tecido adjacente não tumoral. A IL-17B é expressa no nível transcricional em muitos tipos de células, incluindo condrócitos, neurônios, células epiteliais intestinais e células de CM. Sua interação ocorre com um receptor formado por IL-17RB (CHANG; DONG, 2011). Entre os membros da família IL-17, IL-17B tem 29% de homologia com IL-17A (KOLLS; LINDÉN, 2004). Em um estudo analisando amostras humanas *in vitro* verificou-se que IL-17B não induz a expressão de IL-6, mas induz monócitos a produzir TNF- α e IL-1 β (LI et al., 2000).

No contexto do câncer, o papel da IL-17B parece pouco compreendido. A expressão da proteína, especialmente nos compartimentos epitelial e estromal, está aumentada no câncer colorretal (AL-SAMADI et al., 2016). Altos níveis de IL-17B também foram associados a mau prognóstico em pacientes com câncer de pâncreas, pulmão e mama, sugerindo que a mesma sinalização é explorada por células cancerosas para sobrevivência, proliferação e migração (BIE et al., 2017). Por outro lado, altos níveis de IL-17B parecem exercer atividades antiangiogênicas *in vitro* (SANDERS et al., 2010).

Com relação ao ligante IL-17RB (que faz parte do receptor das citocinas IL-17E e IL-17B), um estudo de coorte com 69 pacientes com carcinoma ductal invasivo de mama demonstrou que ele foi regulado positivamente em 19% delas. Além disso, a detecção de IL-

IL-17RB proteica foi significativamente correlacionada com mau prognóstico e alta taxa de mortalidade nesta coorte (FURUTA et al., 2011). Em uma outra coorte de 179 pacientes com CM, a correlação entre a expressão de IL-17RB e o mau prognóstico foi estatisticamente significativa, mesmo após ajuste para vários parâmetros clínicos (idade, tamanho do tumor, estado do linfonodo e expressão do RE (HUANG et al., 2014). Em outro estudo com uma coorte de 143 pacientes, os resultados sugerem que a expressão de IL-17RB e também da citocina IL-17B está associada à redução da sobrevida das pacientes. A mesma pesquisa analisou ainda dados de expressão de 1.809 pacientes com CM e descobriu que a alta expressão de IL-17B foi significativamente correlacionada com pior prognóstico em toda a população (LAPREVOTTE et al., 2017).

A IL-17E é a citocina mais divergente na família IL-17, compartilhando apenas 25-35% de homologia com os outros membros e é produzida por células Th2 (FORT et al., 2001; LEE et al., 2001). Em um estudo de 2016, os pesquisadores demonstraram em um modelo com camundongo com CM, que a IL-17E foi expressa por células TCD4+ e macrófagos no tumor e que um anticorpo neutralizante de IL-17E reduziu a metástase pulmonar (JIANG et al., 2017b). Um outro estudo investigando o papel da IL-17E no CM observou que a expressão do mRNA em pacientes foi significativamente menor do que em tecido normal de mama e sugeriu que a análise da proteína no soro de pacientes com CM pode ser um potencial fator prognóstico (BARATI et al., 2020). A IL-17E é uma citocina que atua nas células do estroma para orquestrar a inflamação por células do tipo Th2, por exemplo, através da produção de quimiocinas como a CCL11 (CHENG et al., 2014). No presente estudo, o transcrito CCL11 foi enriquecido na via de sinalização da IL-17 (além de também enriquecido na via de interação citocina e receptor de citocina) e foi regulado positivamente na análise de expressão diferencial. No contexto do tumor, CXCL11 também foi observada superexpressada em amostras tumorais de câncer de cólon (CAO et al., 2021).

Na via de sinalização IL-17 enriquecida no módulo *Turquoise* da análise II e na análise de enriquecimento dos GDE, o transcrito IL-17C foi observado e apareceu superexpresso no presente estudo de expressão diferencial, assim como a molécula IL-17RE que forma seu receptor heterodimérico (junto com IL-RA) (SONG et al., 2011). A IL-17C foi identificada durante a pesquisa de citocinas relacionadas à IL-17A. (LI et al., 2000). IL-17C compartilha 23% de homologia de aminoácidos com IL-17A (KOLLS; LINDÉN, 2004). É uma citocina produzida predominantemente por células não imunes como células epiteliais do cólon e do pulmão (PFEIFER et al., 2013; SONG et al., 2014), queratinócitos (JOHANSEN et al., 2011) e células musculares lisas (BUTCHER; WASEEM; GALKINA, 2016).

A IL-17C está envolvida em doenças humanas. No contexto tumoral, um estudo com câncer de cólon demonstrou que o IL-17C é regulado positivamente nesse tipo de tumor e que a interleucina medeia a tumorigênese de cólon induzida pela microbiota (SONG et al., 2014). A alta expressão proteica de IL-17C e de seu receptor IL-17RE foi associada ao mau prognóstico de carcinoma hepatocelular e ao aumento da recorrência de pacientes com carcinoma hepatocelular em um estudo realizado com 300 pacientes (LIAO et al., 2013). Em um outro estudo de 2017, os pesquisadores obtiveram evidências de que a IL-17C medeia o recrutamento de neutrófilos associados ao tumor e o crescimento do tumor pulmonar (JUNGNICKEL et al., 2017). No presente estudo, as duas moléculas (a IL e seu receptor) também estavam superexpressas. A interação da citocina e de seu receptor leva no final da via à produção de citocinas relacionadas a inflamação, como, por exemplo, a IL-6, que no presente estudo foi observada subexpressa nas amostras tumorais comparadas ao tecido adjacente não tumoral. Uma possível explicação para esse resultado contraditório é que esteja ocorrendo um silenciamento de IL-17C ou de seu receptor, não sendo ativada a via para a consequente produção de IL-6.

IL-17D é o membro menos investigado da família IL-17 (MCGEACHY; CUA; GAFFEN, 2019). O mRNA de IL-17D é detectado em vários tecidos, incluindo cérebro, coração, pulmão, pâncreas, músculo esquelético e tecido adiposo. A IL-17D parece não estimular a proliferação de células imunes próprias, mas, em resposta ao estresse, induz as células endoteliais a produzirem IL-6, IL-8 e GM-CSF (do inglês *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) (STARNES et al., 2002). Estudos recentes têm mostrado que a expressão de IL-17D é regulada pelo NRF2 (do inglês *nuclear factor erythroid-derived 2-like 2*), um fator de transcrição que é sensor de estresse oxidativo e xenobiótico. A expressão de IL-17D mediada por NRF2 em resposta a estímulos carcinogênicos inicia respostas imunes antitumorais em camundongos pela ativação da vigilância imune mediada por células NK (SADDAWI-KONEFKA et al., 2016).

Com relação ao papel da IL-17D em câncer, é provável que a citocina possa induzir uma resposta antitumoral ao recrutar células NK (LIU; SUN; LIU, 2020). IL-17D é um alvo potencial para imunoterapia tumoral, pois foi descoberto que a injeção da IL recombinante em células de melanoma transplantadas em camundongos causou um atraso de crescimento significativo em comparação com tumores tratados com controle, demonstrando o efeito antitumoral da molécula (O'SULLIVAN et al., 2014). Em CM, a expressão alterada de IL-17D foi, pela primeira vez, relatada no presente estudo, que verificou uma subexpressão do transcrito

no tecido tumoral comparado ao tecido adjacente não tumoral. Além disso, na análise de curva ROC o transcrito foi observado como um bom marcador, sugerindo uma possibilidade de investigação em análises futuras.

Em uma análise ampla, esses estudos somados aos achados aqui relatados, demonstram que as citocinas da família IL-17 exercem funções não redundantes e até opostas, que vão desde a eliminação de células tumorais e reconstituição de tecido, até atividades pró-inflamatórias e pró-tumorais.

2.5 CONCLUSÕES

Em conclusão, o presente estudo identificou vários GDE utilizando uma análise abrangente de bioinformática e bancos de dados públicos. Além disso, vários genes centrais e vias envolvidas na progressão do CM, potenciais preditores ou alvos terapêuticos, foram identificados com destaque para duas vias do KEGG enriquecidas no presente estudo, a interação citocina e receptor de citocina e a via de sinalização da IL-17.

Nas análises de enriquecimento das vias do KEGG em GDE e na análise de coexpressão I e II, a via de interação citocina e receptor da citocina foi observada. Trinta e três transcritos enriquecidos na via foram considerados bons marcadores para o tecido tumoral de mama: ACVR1C, BMP2, BMP3, BMP8A, CCL11, CCL14, CCL16, CCL21, CCR8, CNTFR, CSF3, CXCL2, CXCL9, CXCL10, CXCL11, GDF10, GHR, IL-6, IL-9R, IL-17D, IL-19, IL-20, IL-21R, IL-33, INHBA, LEP, LEPR, LIFR, PPBP, TNFRSF9, TNFRSF18, TNFSF4 e TSLP.

Nas análises de enriquecimento das vias do KEGG em GDE e nos módulos da análise de coexpressão II, a via de sinalização da IL-17 foi observada. Seis transcritos enriquecidos na via se destacam e foram considerados bons marcadores para o tecido tumoral de mama: CCL11, CXCL10, MMP1, MMP3, MMP9 e MMP13.

Os achados do presente estudo *in silico* são de grande importância na definição de melhores genes candidatos, cuja variação da expressão pode estar relacionada com a progressão tumoral. Assim, esses genes identificados podem representar alvos mais adequados para verificação experimental, ajudando a elucidar mecanismos subjacentes à tumorigênese, progressão e manutenção do CM. Além disso, bons genes candidatos podem ser utilizados como biomarcadores, contribuindo para o estabelecimento de um melhor diagnóstico e conduta terapêutica.

3 CAPÍTULO II - ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES TNFRSF1A E IFNLRI COM O RISCO DE DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DE MAMA E CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS

3.1 INTRODUÇÃO

O CM é o câncer mais comumente diagnosticado e que mais causa mortes em mulheres em todo o mundo (THE UNION INTERNATIONAL CANCER CONTROL, 2018). O projeto GLOBOCAN estima, aproximadamente, 2 milhões (24%) de novos casos e 622 mil mortes de mulheres por CM em todo o mundo em 2018 (representando a quinta causa de morte no mundo) (BRAY et al., 2018). O CM é o principal tipo de câncer entre as mulheres brasileiras. Em 2018, segundo o Instituto Nacional de Câncer, 17 mil mulheres morreram por CM no Brasil (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, 2019). Para o triênio 2019-2021 são previstos 66.280 novos casos de CM a cada ano. Este valor corresponde a um risco estimado de 61,61 novos casos a cada 100 mil mulheres.

A progressão de tumores é controlada por uma interação complexa entre a resposta imune do hospedeiro e as células cancerosas (GONZALEZ; HAGERLING; WERB, 2018). As células cancerosas tendem a acumular mutações e podem adquirir fenótipos específicos, como a capacidade de evitar e resistir à resposta imune do hospedeiro (DE KRUIJF et al., 2010; PARCESEPE et al., 2016). Estudos anteriores demonstraram que a inflamação crônica nas proximidades do microambiente tumoral pode promover o crescimento, bem como a progressão do CM (BEN-BARUCH, 2003; ELINAV et al., 2013; IYENGAR; HUDIS; DANNENBERG, 2015; LU; OUYANG; HUANG, 2006). As respostas inflamatórias desempenham papéis decisivos em diferentes estágios do desenvolvimento do tumor, incluindo patogênese, invasão e metástase e, portanto, as citocinas inflamatórias são componentes críticos da progressão do tumor. As citocinas ativam seus efeitos imunomoduladores por meio de sua interação com receptores específicos. Assim, polimorfismos genéticos em genes responsáveis pela codificação desses receptores podem resultar em expressão alterada e/ou mudanças estruturais que podem afetar a atividade biológica das citocinas (DHIMAN et al., 2010; MOUDGIL; CHOUBEY, 2011).

Variantes genéticas em genes de receptores de citocinas relacionados à inflamação do Receptor de Fator de Necrose Tumoral Membro Superfamília 1A (*TNFRSF1A*) e receptor 1 do interferon lambda ($INF-\lambda$) (*IFNLRI*), também conhecido como receptor da interleucina 28, alfa (*IL-28RA*) foram associados a doenças inflamatórias (DASHTI et al., 2020; DE JAGER et al.,

2009; GREGORY et al., 2012; HOFFJAN et al., 2015; JAVOR et al., 2018; LI et al., 2013; LOPEZ DE LAPUENTE et al., 2012a; MA et al., 2017; PARK et al., 2013; SHAO et al., 2018; STRANGE et al., 2010; WATTS et al., 2019; XU et al., 2014; YANG et al., 2013). A interação desses receptores com seus ligantes pode regular a inflamação e aumentar a atividade invasiva e o potencial metastático das células tumorais, conforme relatado por alguns estudos (HENGEVELD; KERSTEN, 2015; JIANG et al., 2017a; XU et al., 2014). No entanto, atualmente existem poucos estudos relacionando esses genes à suscetibilidade ao CM.

O TNFR1 é o principal receptor do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e pertence a uma superfamília de receptores para o TNF. O TNF- α é produzido por células neoplásicas ou células do microambiente tumoral e pode atuar como promotor tumoral endógeno. No tecido mamário normal, o TNF- α regula a proliferação celular por meio de seus efeitos pró-apoptóticos, mas no CM, a inibição da via apoptótica e o aumento dos efeitos de sobrevivência e proliferação contribuem para a proliferação de células tumorais (GARCÍA-TUÑÓN et al., 2006).

Como um dos receptores do TNF- α , o TNFR1 pode ativar o NF-Kappa β , mediar a apoptose e regular a inflamação (XU et al., 2014). Variantes genéticas no gene *TNFRSF1A* podem ser responsáveis por causar alterações estruturais e/ou funcionais no receptor, que por sua vez podem resultar em um desequilíbrio na ação das citocinas, do TNF (DHIMAN et al., 2010). A variante rs1800693 foi identificada e estudos funcionais mostraram que ela leva à produção de uma nova isoforma de TNFR1 (COMABELLA et al., 2013; KULAKOVA et al., 2018). Esta isoforma não possui a porção C-terminal, incluindo o domínio transmembranar e as regiões intracelulares que são essenciais para sua localização celular adequada (COMABELLA et al., 2013; GREGORY et al., 2012). A variante rs1800693 está localizada no íntron 6 do gene *TNFRSF1A* e acredita-se que influencie a remoção do éxon 6. Em um ensaio de *splicing in vitro*, o alelo C resultou em um transcrito que não possui o éxon 6, Δ 6-TNFR1. Ao analisar a sinalização mediada por Δ 6-TNFR1, observou-se que a ausência do domínio afetou a transdução de sinal que induz à apoptose (GREGORY et al., 2012).

A proteína codificada pelo gene *IFNLR1* pertence à família de receptores de citocinas de classe II e forma um complexo com o receptor beta da interleucina 10 (IL-10RB). Este complexo interage com interferons do tipo III (CHENG et al., 2015; SHEPPARD et al., 2003). O IL-28RA interage com o INF- λ que possui propriedades imunomoduladoras, incluindo o processo de apoptose celular, importante no cenário do câncer (LI et al., 2009b; NUMASAKI et al., 2007). A sinalização celular do IFN- λ , por meio de seu complexo receptor, induz a ativação da via JAK/STAT (Janus Kinase/Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição).

Em última análise, esta via resulta na indução de elementos responsivos estimulados por IFN e inicia a transcrição de genes alvo (DE GROEN; LIU; BOONSTRA, 2014). No contexto do câncer, esses genes ativados por IFN- λ estão envolvidos na indução de respostas antiproliferativas em células tumorais (LI et al., 2009b). Alterações no gene que codifica uma das subunidades do receptor IFN- λ , IL-28RA, podem interromper a via de ação dessa citocina. Uma das mudanças relatadas é a variante rs4649203, localizada na região 3' não traduzida (3'UTR) do gene *IFNLRI* que pode afetar a expressão do receptor IL-28RA (CAI et al., 2015; GRIFFITHS et al., 2015).

Assim, ambos os genes codificam receptores para citocinas-chave nas vias inflamatórias. A via do fator de necrose tumoral (TNF) há muito está implicada em doenças inflamatórias e no câncer e é uma das citocinas pró-inflamatórias essenciais encontradas no microambiente tumoral de pacientes com CM. A variante rs1800693 já foi associada ao CM em uma população chinesa (XU et al., 2014), mas nenhum outro estudo replicou essa associação em outras populações.

O receptor IL-28RA também é um receptor-chave nas vias do Interferon (IFN) - lambdas. Uma meta-análise que investigou a associação entre o gene *IFNLRI* e vários tipos de cânceres descobriu que a expressão de IL-28RA estava de fato relacionada ao prognóstico (YANG et al., 2010). A variante rs4649203 do gene foi relacionada a doenças inflamatórias em alguns estudos (LI et al., 2013; LOPEZ DE LAPUENTE et al., 2012a; STRANGE et al., 2010) e acredita-se que tenha impacto em várias vias inflamatórias que são importantes no desenvolvimento do câncer. Além do estudo chinês, nenhum outro estudo investigou a associação dessas variantes com qualquer tipo de câncer. Assim, foi hipotetizado que essas variantes também poderiam contribuir para a suscetibilidade ao CM.

Considerando o papel desses receptores nas respostas inflamatórias e potencialmente na formação de tumores, neste estudo caso-controle foi investigado se variantes nos genes dos *TNFRSF1A* (rs1800693) e *IFNLRI* (rs4649203) contribuem para a suscetibilidade ao CM. Além disso, foi investigado como alguns fatores epidemiológicos e características clínicas podem estar associados ao desenvolvimento do CM e às variantes genéticas analisadas.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Pacientes e controles

Este estudo envolveu um total de 537 mulheres (20 a 96 anos de idade): 243 pacientes com CM (27 a 96 anos de idade) e 294 controles (20 a 94 anos de idade) sem histórico de câncer, do estado de Santa Catarina. Dados epidemiológicos como idade, hábito tabagista e IMC foram coletados através de uma entrevista com os controles (ANEXO A) e casos (ANEXO B). Todos os pacientes tiveram diagnóstico de CM primário confirmado histopatologicamente com a Classificação de Tumores Malignos (TNM, do inglês *Classification of Malignant Tumours*) variando entre estágio I e III. As características clínicas dos pacientes com CM analisados incluíram metástases em linfonodos, receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RPG) e receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (C-erbB-2). As amostras foram obtidas no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU/UFSC) seguindo as normas éticas em experimentação humana. Somente as mulheres que concordaram em participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXOS C e D) foram incluídas neste estudo. Este estudo foi aprovado pelos comitês de ética locais (protocolo nº 922.167).

3.2.2 Genotipagem de variantes

O DNA foi extraído de amostras de sangue periférico pelo método de *salting-out* (Miller et al. 1988). A variante rs1800693 do gene *TNFRSF1A* e rs4649203 do gene *IFNLR1* foram genotipadas por ensaio de genotipagem TaqMan (Thermo Fisher Scientific, cat nr 4351379; C_2645714_10 e cat nr 4351379; C_27915464_10, respectivamente) seguindo as recomendações do fabricante.

3.2.3 Análise estatística

O Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) para a distribuição das duas variantes foi analisado usando o teste χ^2 de adequação, comparando as frequências genótípicas observadas com as frequências esperadas em ambos os grupos, casos e controles (GENEPOP por ROUSSET; RAYMOND, 1995). Para analisar a associação dos fatores genéticos com o desenvolvimento do CM, foi realizada uma regressão logística univariada (Modelo 1), com *odds ratios* (OR) não ajustados e intervalos de confiança (IC) de 95% estimados. Três características epidemiológicas foram incluídas (idade, IMC e hábito de fumar) para regressão logística univariada como fatores de confusão. Variáveis significativas associadas ao desfecho

foram selecionadas e incluídas em uma regressão logística multivariada (Modelo 2). A análise de regressão de Poisson foi realizada para analisar as variáveis genéticas associadas às características patológicas (RE; RPG; C-erbB-2; metástases de LN). Os fatores associados pela análise univariada foram identificados, com estimativa de razões de prevalência (RP) não ajustadas e intervalos de confiança de 95% (IC) usando uma variância robusta. Em seguida, foi realizada uma regressão de Poisson multivariada ajustando para as variáveis significativas. As análises univariadas foram chamadas de Modelo 1 e as análises multivariadas foram chamadas de Modelo 2 (BARROS; HIRAKATA, 2003). As análises estatísticas foram realizadas no *software* SPSS 20.0 e um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Além disso, o teste Qui-quadrado de Pearson foi utilizado para analisar a associação das variantes genéticas com o CM por meio dos modelos genéticos dominante, recessivo e codominante. Para esta análise, foi utilizado o *software* WinPepi 11.65 (de Joseph H Abramson 2016) e um valor de $p < 0,05$ também foi considerado estatisticamente significativo.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Características epidemiológicas e frequências genotípicas e alélicas

A média de idade foi de $53,75 \pm 13,61$ anos nos pacientes (27 a 96 anos) e $45,00 \pm 16,14$ anos nos controles (20 a 94 anos). Aproximadamente 40% ($n = 94$) dos pacientes e 11% ($n = 32$) dos controles eram fumantes. No grupo com CM a média do IMC foi de $27,05 \pm 5,29$ (15,06 a 54,08) e no grupo controle foi de $25,79 \pm 5,70$ (16,88 a 47,48).

As frequências genotípicas e alélicas em pacientes com CM (casos) e controles estão descritas na Tabela 6. As distribuições de frequência para sítios polimórficos em casos e controles não estão de acordo com o EHW ($p < 0,001$). No entanto, a ausência de EHW não afeta os resultados encontrados, uma vez que os dois grupos (caso e controle) para ambos os *loci* compartilham o desvio devido ao excesso de heterozigotos. Esse desvio pode ser explicado pelo acaso ou mesmo pela seleção das amostras, mulheres com e sem câncer, com preferência por faixa etária semelhante. Para o polimorfismo *TNFRSF1A*, o alelo C teve uma frequência de 0,45 e para o alelo T foi de 0,55 em ambos os controles e casos. Para o polimorfismo *IFNLRI* o alelo A apresentou frequência de 0,54 no grupo controle e 0,49 no grupo casos e o alelo G foi de 0,46 nos controles e 0,51 nos casos.

3.3.2 Associações entre dados epidemiológicos e desenvolvimento de câncer de mama

Analisando os dados epidemiológicos individualmente, algumas associações foram encontradas. Considerando a idade, observou-se que o aumento de cada ano contribui para um aumento de 0,03 no risco para o desenvolvimento do CM ($p < 0,001$, OR = 1,03, IC 95%: 1,02–1,05) (Tabela 6). O mesmo padrão foi observado com o IMC, onde o aumento de uma unidade foi associado a um aumento de 0,04 no risco de desenvolver CM ($p = 0,018$, OR = 1,04, IC 95%: 1,00–1,08) (Tabela 6). O fator tabagismo aumenta o risco de desenvolver CM em cerca de 5 vezes ($p < 0,001$, OR = 5,32, IC 95%: 3,42–8,46) (Tabela 6). Assim, todas as características epidemiológicas foram associadas a um risco aumentado para o desenvolvimento de CM.

3.3.3 Polimorfismos dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* e o risco de câncer de mama

Para o gene *TNFRSF1A*, o genótipo CT foi significativamente associado a um aumento da suscetibilidade ao CM quando comparado ao genótipo TT ($p = 0,049$, OR = 1,61, IC 95%: 1,00–2,62, Tabela 6 - Modelo 1). Ao se ajustar aos fatores significativos (idade, tabagismo e IMC) obtidos no modelo univariado, o fator IMC deixou de ser significativo. Optou-se, então, por retirar esse fator da análise multivariada, restando apenas variáveis significativas no modelo final. No entanto, não foi encontrada nenhuma correlação entre o polimorfismo *TNFRSF1A* e o risco de desenvolvimento de CM.

Para o gene *IFNLRI*, o genótipo AA foi associado com risco reduzido de CM quando comparado ao genótipo GG ($p = 0,04$, OR = 0,53, IC 95%: 0,28–0,98, Tabela 6). Ao realizar o ajuste pelos fatores significativos (idade, tabagismo e IMC) no modelo univariado, o fator IMC novamente deixou de ser significativo. O fator IMC foi removido da análise multivariada e o genótipo AA permaneceu significativamente associado a um risco diminuído para o desenvolvimento de CM ($p = 0,008$, OR = 0,38, IC 95%: 0,28–1,09).

Tabela 6 - Distribuição de genótipos e alelos dos polimorfismos dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* em casos e controles e regressão logística.

Fator	Genótipos/ alelos	Controles n (%)	Casos n (%)	Modelo 1		Modelo 2	
				OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor
Idade		45,00±16,14	53,75±13,61	1,03 (1,02-1,05)	< 0,001		
Hábito tabagista	Sim	32 (11,43%)	94 (40,69%)	5,32 (3,42-8,46)	< 0,001		
	Não	248 (88,57%)	137 (59,31%)	1			
IMC		25,79 ± 5,70	27,05 ± 5,29	1,04 (1,00-1,08)	0,018		
<i>TNFRSF1A</i> rs1800693	CC	27 (10%)	11 (4,87%)	0,68 (0,29-1,52)	0,357	0,74 (0,29-1,83)	0,528
	CT	188 (69,63%)	182 (80,53%)	1,61 (1,00-2,62)	0,049	1,60 (0,94-2,74)	0,08
	TT	55 (20,37%)	33 (14,60%)	1		1	
	C	242 (44,81%)	204 (45,13%)	1,01 (0,79-1,30)	0,92	1,03 (0,77-1,37)	0,83
	T	298 (55,19%)	248 (54,87%)	1		1	
<i>IFNLRI</i> rs4649203	AA	59 (21,53%)	32 (13,67%)	0,53 (0,28-0,98)	0,04	0,38 (0,18 0,77)	0,008
	AG	178 (64,96%)	164 (70,09%)	0,89 (0,54-1,48)	0,67	0,88 (0,50-1,56)	0,67
	GG	37 (13,51%)	38 (16,24%)	1		1	
	A	296 (54,01%)	228 (48,72%)	0,80 (0,63-1,03)	0,092	0,71 (0,54-0,95)	0,02
	G	252 (45,99%)	240 (51,28%)	1		1	

Modelo 1: análise univariada; Modelo 2: análise multivariada avaliando o efeito do polimorfismo corrigido pela idade e hábito tabagista.

Abreviações: n = número; OR = *odds ratio*; IC = intervalo de confiança; IMC = Índice de massa corporal. Os valores destacados em negrito indicam a significância estatística de $P < 0,05$.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Considerando os efeitos dos alelos, não foi encontrada associação significativa com a susceptibilidade ao CM no modelo univariado, nem no modelo multivariado para o gene *TNFRSF1A*, mesmo após ajuste. No entanto, o alelo *IFNLRI* A foi um fator de proteção para CM ($p = 0,02$, OR = 0,71, IC de 95%: 0,54– 0,95 na Tabela 6 - Modelo 2). Assim, o genótipo AA e o alelo A do gene *IFNLRI* foram relacionados a um menor risco de desenvolver CM.

Além da regressão logística, três modelos genéticos (codominante, dominante e recessivo) foram utilizados para avaliar a associação entre os genótipos e a susceptibilidade ao CM (Tabela S10 - APÊNDICE H). Para a variante *TNFRSF1A*, foi encontrado valor Qui-quadrado significativo com o modelo codominante ($p = 0,014$) e modelo recessivo ($p = 0,033$). Para a variante *IFNLRI*, o modelo recessivo apresentou significância ($p = 0,021$).

3.3.4 Associações entre os polimorfismos *TNFRSF1A* e *IFNLRI* e características clínicas dos pacientes

Entre os pacientes em estudo, 58,97% eram positivos para RE, 47,86% para RPG, 11,96% para C-erbB-2 e 27,35% tinham linfonodos afetados. As associações entre as variantes

nos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* e as características clínicas do CM são mostradas na Tabela 7 e nas Tabelas S11-S13 (APÊNDICE I).

Apenas uma associação foi encontrada entre o gene *IFNLRI* e a presença de RPG. O genótipo AA foi associado à ausência de RPG ($p = 0,02$, OR = 0,59, IC 95%: 0,38– 0,92 na Tabela 7). No modelo multivariado com ajuste para idade, o genótipo AA permaneceu associado ($p = 0,02$, OR = 0,23, IC 95%: 0,06– 0,77 na Tabela 7). Assim, RPG positivo é menos prevalente em mulheres com genótipo AA do que naquelas com genótipo GG para o polimorfismo analisado.

Tabela 7 - Associações entre as variantes dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* (genótipos e alelos) e o *status* do receptor de progesterona em pacientes com câncer de mama.

Gene	Positivo RPG	Modelo 1		Modelo 2	
		RP (95% IC)	<i>p</i> -valor	RP (95% IC)	<i>p</i> -valor
Idade		0,99 (0,98 - 0,99)	0,03		
Hábito tabagista	Sim (n=55)	1,15 (0,95 - 1,40)	0,15		
	Não (n=62)	1			
IMC		1,01 (0,99 - 1,03)	0,12		
<i>TNFRSF1A</i> rs1800693	CC (n= 8)	0,91 (0,49 - 1,69)	0,77	1,01 (0,17 - 6,54)	0,98
	CT (n= 126)	1,00 (0,73 - 1,40)	0,95	1,35 (0,43 - 3,86)	0,59
	TT (n= 19)	1		1	
	C (142)	0,99 (0,85 - 1,15)	0,91	1,02 (0,63 - 1,68)	0,92
	T (164)	1		1	
<i>IFNLRI</i> rs4649203	AA (n= 25)	0,59 (0,38 - 0,92)	0,02	0,23 (0,06 - 0,77)	0,02
	AG (n= 110)	0,87 (0,70 - 1,08)	0,21	0,60 (0,19 - 1,64)	0,35
	GG (n= 27)	1		1	
	A (160)	0,86 (0,74 - 0,99)	0,04	0,63 (0,38 - 1,01)	0,05
	G (164)	1		1	

Modelo 1: análise univariada; Modelo 2: análise multivariada avaliando o efeito do polimorfismo corrigindo por idade.

Abreviações: n = número; RPG = receptor de progesterona; RP = razão de prevalência; IC = intervalo de confiança; IMC = índice de massa corporal. Os valores destacados em negrito indicam a significância estatística de $P < 0,05$.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

O alelo A também mostrou significância ($p = 0,04$, RP = 0,86, IC 95%: 0,74–0,99 na Tabela 7) no modelo univariado e na análise multivariada considerando a idade ($p = 0,05$, RP = 0,63, IC 95%: 0,38– 1,01 na Tabela 7).

3.4 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou as associações entre variantes potencialmente funcionais nos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* com suscetibilidade ao CM e dados clínicos e epidemiológicos.

Dados contraditórios foram encontrados na literatura para a variante rs180693 T/C do gene *TNFRSF1A*, em relação à associação com outras doenças. Uma meta-análise da população global indicou que o alelo T foi associado a um risco aumentado de esclerose múltipla (EM) (DE JAGER et al., 2009). Em um estudo com uma coorte do Reino Unido, por outro lado, o alelo C foi associado à EM, identificando aumento da expressão de $\Delta 6$ -TNFR1, uma forma solúvel da proteína (GREGORY et al., 2012). O alelo C também foi associado a um risco aumentado de EM em um estudo caso-controle conduzido em uma população germânica (HOFFJAN et al., 2015), em uma população eslovaca (JAVOR et al., 2018) e em um estudo recente com a população de Kuwait (DASHTI et al., 2020). Além disso, o alelo C foi associado ao risco de desenvolver neuromielite óptica em um estudo caso-controle em uma população coreana (PARK et al., 2013). Em um estudo com espondilite anquilosante e gravidade da doença avaliada em uma população caucasiana do Reino Unido, os homozigotos CC apresentaram índice de atividade da doença significativamente pior do que os homozigotos TT (WATTS et al., 2019). Até o momento, apenas um estudo analisou essa variante na suscetibilidade ao CM, em uma população chinesa, com a variante associada apenas como parte de um haplótipo (XU et al., 2014). No presente estudo, o genótipo CT foi associado a um risco aumentado de CM no modelo univariado, mas não no modelo multivariado de regressão logística.

A consequência funcional da variante rs1800693 do gene *TNFRSF1A* e seu papel no desenvolvimento da doença permanecem desconhecidos. A variante é intrônica e acredita-se que afete o *splicing* do transcrito. Em um ensaio de *splicing in vitro*, o alelo G resultou na ausência do éxon 6 levando à nova isoforma $\Delta 6$ -TNFR1, que não possui a porção C-terminal extracelular do quarto domínio rico em cisteína de FL-TNFR1, o domínio transmembranar, e a região intracelular, o que afeta sua localização subcelular apropriada (GREGORY et al., 2012). Isso potencialmente interfere na sinalização intracelular, com possíveis efeitos em sua função biológica na via. Assim, novos estudos seriam importantes para melhor compreender as vias onde a proteína atua e se a variante pode afetar a patogênese de doenças como o CM, ou se não há associação, como encontrado no presente estudo.

No presente estudo, também foi demonstrado que a variante rs4649203 no gene *IFNLRI* está associada ao CM e dados clínicos em uma população do sul do Brasil. O alelo A e o genótipo AA foram considerados fatores de proteção para o CM. Este é o primeiro relato da associação desse gene com o CM, apenas estudos com doenças autoimunes investigaram essa variante. Em um estudo caso-controle, o alelo A foi associado com EM na população de Bilbao

(LOPEZ DE LAPUENTE et al., 2012). Um estudo de associação de todo o genoma (GWAS, do inglês *Genome-wide association study*) de vários países europeus encontrou o alelo A associado à psoríase (STRANGE et al., 2010). Em contraste, o alelo G foi associado à psoríase vulgar e à artrite psoríase em uma população chinesa (YANG et al., 2013). Já em um estudo na população chinesa Han, revelou-se que o alelo G confere proteção contra a psoríase; em contraste, o mesmo alelo está associado a um risco elevado de lúpus eritematoso sistêmico (LI et al., 2013). Esses resultados podem sugerir que a variante tem efeitos biológicos opostos nessas doenças autoimunes.

O efeito funcional deste polimorfismo não é bem conhecido. No entanto, está localizado na região 3' não traduzida (3'UTR do inglês: *untranslated region*) do gene, sugerindo que a variante pode influenciar a expressão do receptor IL-28RA (CAI et al., 2015; GREGORY et al., 2012). O IL-28RA interage com o INF- λ que possui propriedades imunomoduladoras, incluindo o processo de apoptose celular, importante no contexto dos cânceres (LI et al., 2009b; NUMASAKI et al., 2007). Os efeitos antiproliferativos do IFN- λ foram demonstrados em várias linhagens de células tumorais que expressam receptores de IFN- λ (BRAND et al., 2005; MEAGER et al., 2005; ZITZMANN et al., 2006). Uma análise genômica do IL-28RA descobriu que a molécula é expressa em diferentes tipos de câncer, como câncer de bexiga, CM, glioma, linfoma, câncer de cabeça e pescoço e câncer de pulmão (YANG et al., 2010). O mesmo estudo identificou que a expressão de IL-28RA estava correlacionada com pior sobrevida de pacientes com CM (YANG et al., 2010). A associação genética combinada com novos estudos funcionais pode contribuir para o entendimento dos mecanismos por trás da associação de IL-28RA com CM e potencialmente outros tipos de câncer.

As características clínicas podem, em alguns casos, predizer o prognóstico do CM e as possibilidades de tratamento. Pacientes RE e RPG-positivos têm um prognóstico consideravelmente melhor do que RE e RPG-negativos quando os pacientes são tratados com terapia hormonal. Esses dois parâmetros têm sido comumente usados como marcadores preditivos para a escolha da estratégia de tratamento (RAKHA et al., 2019; STENDAHL et al., 2006). O presente estudo mostrou que o alelo A do gene *IFNLRI* estava associado ao *status* de RPG, sugerindo que essa variante pode ser importante na predição do prognóstico de pacientes com CM. Esse achado pode indicar que esse alelo, quando comparado ao G, pode estar relacionado a um mRNA mais estável, ou a um mRNA com menos sítios de ligação de miRNA e, conseqüentemente, pode estar relacionado com maior expressão do receptor IL-28RA e, portanto, maior atividade anti-inflamatória, contribuindo para um melhor prognóstico dos pacientes com CM.

Em relação aos dados epidemiológicos, neste estudo o tabagismo foi relacionado a um risco 5 vezes maior de desenvolver CM. Esse resultado corrobora vários estudos prévios. O tabagismo pode ser responsável por cerca de 20-30% de todos os casos gerais de câncer em todo o mundo (KATZKE; KAAKS; KÜHN, 2015). Acredita-se que as toxinas contidas nos cigarros possam modular o sistema imune, causando uma redução na quantidade de células NK e, assim, diminuindo a imunidade mediada por células (SCOTT et al., 2013). Um estudo com quase 80 mil mulheres nos Estados Unidos da América, descobriu que fumantes tinham 16% mais probabilidade de desenvolver CM do que aquelas que nunca fumaram (LUO et al., 2011). Uma meta-análise com estudos caso-controle afirmou que há evidências consistentes de um aumento moderado no risco de desenvolver CM em mulheres que possuam o hábito tabagista (MACACU et al., 2015). O risco relativo do CM associado ao tabagismo também foi maior em mulheres com história familiar da doença (JONES et al., 2017). Também foi verificado que o fator IMC foi associado ao aumento do risco de desenvolver CM. Estudos anteriores mostraram a obesidade como um fator de risco (AHN et al., 2007; BORGQUIST; JIRSTR, 2009; CHLEBOWSKI et al., 2013). Um estudo brasileiro identificou risco 2,57 vezes maior de desenvolver CM em mulheres com IMC maior que 30 (PINHEIRO et al., 2015). Outro fator associado ao desenvolvimento do CM neste estudo foi a idade. A incidência e índices de mortalidade de CM aumentam proporcionalmente com a idade. Em todo o mundo, esta doença atinge o pico por volta dos 60 anos de idade com uma inclinação acentuada a partir dos 40 anos (WINTERS et al., 2017).

Os resultados encontrados aqui, juntamente com novos estudos das consequências funcionais das variantes podem melhorar a compreensão da patogênese do CM e potencialmente outros tipos de câncer. A associação de marcadores genéticos com características clínicas particulares de cânceres é um grande passo na compreensão das diferentes vias da doença e pode representar uma ferramenta importante para a caracterização, diagnóstico, prognóstico e tratamento de pacientes com CM de formas mais específicas. Esses achados são importantes para uma melhor compreensão do papel dos receptores *TNFRSF1A* e *IFNLRI* no desenvolvimento de CM.

O CM é uma doença inflamatória crônica multifatorial que envolve uma interação complexa entre fatores genéticos, fatores ambientais e hábitos de vida. Como muitas outras doenças complexas, é muito difícil investigar a influência de cada fator envolvido em sua patogênese individualmente, principalmente o envolvimento de fatores genéticos. Algumas limitações do estudo merecem ser mencionadas. Primeiro, o pequeno tamanho da amostra.

Essas observações devem ser confirmadas em uma amostra maior. Em segundo lugar, apenas um polimorfismo em cada gene foi analisado, e valeria a pena considerar outros polimorfismos que são possivelmente funcionais nos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* em estudos futuros. No entanto, o presente estudo tem alguns pontos fortes, como variáveis de ajuste para variáveis de confusão, incluindo idade, hábito de fumar e IMC. Além disso, este é o primeiro estudo a investigar a relação entre a variante do gene *IFNLRI* com o CM. Este estudo tem um poder adequado para detectar o efeito da variante *IFNLRI* no CM, uma vez que as análises conduzidas dessa forma foram significativas. Porém, optou-se por analisar as características clínicas associadas à doença e foram observados vários resultados não significativos. Foi estabelecido que o poder nas análises apresentadas nas tabelas complementares é inferior ao valor desejável (80%). Esses baixos valores podem ser uma possível explicação para os resultados não significativos observados, uma vez que o tamanho da amostra nessas análises foi inferior ao obtido na análise de susceptibilidade. Além disso, em diversas análises a razão de prevalência observada foi próxima a 1, mostrando que os grupos eram muito semelhantes. Nestes casos, a principal razão para os resultados não significativos é uma diferença real entre os grupos, em vez do pequeno tamanho da amostra. No entanto, foi o primeiro estudo a analisar o efeito dessas variantes nessas características. Novos estudos investigando outros polimorfismos descritos para os dois genes, bem como uma investigação sobre como os polimorfismos podem impactar a expressão dessas proteínas podem ajudar a esclarecer sobre o impacto potencial dessas variantes genéticas nas vias do CM.

3.5 CONCLUSÕES

Em conclusão, com base nos resultados obtidos na presente análise, pode-se supor que o genótipo AA e o alelo A para a variante rs4649203 do gene *IFNLRI* representam um fator de proteção para CM, e que a presença do alelo A ou genótipo AA está associada à presença de RPG, possivelmente indicando melhor prognóstico. O estudo também encontrou associações entre os dados epidemiológicos idade, hábito de fumar e o IMC e o desenvolvimento do CM. Neste trabalho não foi encontrada correlação entre o polimorfismo *TNFRSF1A* e o risco de CM. Estudos futuros devem incluir a investigação dessas variantes em populações maiores e a análise da expressão gênica no contexto do CM. Esses achados contribuem para um melhor entendimento do envolvimento desses receptores de citocinas no desenvolvimento do CM e também na busca de marcadores que possam ser usados para auxiliar diagnósticos e prognósticos mais específicos, promovendo um tratamento mais individualizado.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo abordou duas análises, uma investigando a associação de alterações transcricionais e uma investigando a associação de variantes em genes relacionados às citocinas e seus receptores ao CM.

Na primeira análise, buscou-se desvendar o perfil transcricional de amostras tumorais com relação à expressão diferencial, comparando com o tecido adjacente não tumoral das mesmas pacientes. O foco da análise foi investigar alterações na expressão de genes relacionados às citocinas e seus receptores. Foram encontrados 2.020 genes identificados como diferencialmente expressos em tecido tumoral em relação ao tecido adjacente não tumoral. Desses, 1.152 estavam superexpressos em tecido tumoral e 868 estavam subexpressos. Alguns genes centrais e vias envolvidas na progressão do CM, que podem ser preditores ou alvos terapêuticos, foram identificados. Nas análises de enriquecimento das vias do KEGG, destacam-se a via de interação citocina e receptor da citocina e a via de sinalização da IL-17. Alguns transcritos enriquecidos nas vias foram considerados bons marcadores para o tecido tumoral de mama. Os achados do presente estudo *in silico* podem vir a ser alvos de verificação experimental, a fim de elucidar os mecanismos subjacentes à tumorigênese, progressão e manutenção do CM.

Na segunda análise, foi realizado um levantamento da variabilidade de polimorfismos dos genes *TNFRSF1A* (rs1800693) e *IFNLRI* (rs4649203) em mulheres com CM e mulheres sem histórico da doença. Os polimorfismos foram relacionados com características clínico-patológicas das pacientes e também com dados epidemiológicos dos dois grupos. Com relação ao gene *TNFRSF1A*, nenhum resultado significativo foi encontrado. Para *IFNLRI*, o genótipo AA e o alelo A foram significativamente associados a um menor risco de desenvolver CM. Ao analisar a idade, observou-se que cada ano a mais contribui para o desenvolvimento do CM. Além disso, o hábito de fumar e o IMC aumentam o risco de desenvolvimento da doença. Analisando o fator RPG, foi encontrada associação com o genótipo AA do *IFNLRI*. Os resultados sugerem que o polimorfismo analisado no gene *IFNLRI* contribui para a suscetibilidade ao CM nessa amostra da população brasileira.

De forma geral, este estudo permitiu investigar a possibilidade de associação de variantes polimórficas e alterações transcricionais em genes relacionados às citocinas e seus receptores, além de características clínicas e epidemiológicas. Este tipo de estudo auxilia na compreensão da patogênese da doença, considerando as condições clínicas heterogêneas, ao

buscar identificar possíveis marcadores moleculares relacionados, contribuindo para o desenvolvimento futuro de um diagnóstico, prognóstico e tratamentos mais eficazes e personalizados.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia: Celular e Molecular**. 9. ed. Rio De Janeiro: Editora Elsevier Ltda, 2019.
- ABDUL, S. et al. Mutat Res Fund Mol Mech Mutagen Mutation , methylation and expression analysis of LIFR gene in Indian breast cancer patients. **Mutat Res Fund Mol Mech Mutagen**, v. 816–818, n. January, p. 111677, 2019.
- ACS, A. C. S. **What Is Breast Cancer?**
- AHN, J. et al. Adiposity, Adult Weight Change, and Postmenopausal Breast Cancer Risk. v. 167, n. 19, p. 2091–2102, 2007.
- AL-SAMADI, A. et al. Distinctive expression pattern of interleukin-17 cytokine family members in colorectal cancer. **Tumor Biology**, v. 37, n. 2, p. 1609–1615, 2016.
- AMENS, J. N.; BAHÇEÇIOĞLU, G.; ZORLUTUNA, P. Immune System Effects on Breast Cancer. **Cellular and Molecular Bioengineering**, v. 14, n. 4, p. 279–292, 2021.
- AMIN, M. N. et al. Inflammatory cytokines in the pathogenesis of cardiovascular disease and cancer. **SAGE Open Medicine**, v. 8, p. 205031212096575, 2020.
- APRYL S. SAUNDERS et al. Sinalização do fator 3 estimulador de colônias em cânceres de cólon e reto: resposta imune e classificação CMS em dados TCGA. **PLoS ONE**, v. 16(2), 2021.
- ARTEAGA, C. L.; DUGGER, T. C.; HURD, S. D. The multifunctional role of transforming growth factor (TGF)- β s on mammary epithelial cell biology. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 38, n. 1, p. 49–56, 1996.
- ASNAGHI, L. et al. ACVR1C/SMAD2 signaling promotes invasion and growth in retinoblastoma. **Oncogene**, v. 38(12), n. 12, p. 2056–2075, 2019.
- ATZENI, F.; SARZI-PUTTINI, P. **Tumor Necrosis Factor**. [s.l.] Elsevier Inc., 2013. v. 7
- AZENSHTEIN, E. et al. The CC chemokine RANTES in breast carcinoma progression: Regulation of expression and potential mechanisms of promalignant activity. **Cancer Research**, v. 62, n. 4, p. 1093–1102, 2002.
- BADACHE, A.; HYNES, N. E. Interleukin 6 Inhibits Proliferation and , in Cooperation with an Epidermal Growth Factor Receptor Autocrine Loop , Increases Migration of T47D Breast Cancer Cells 1. n. 12, p. 383–391, 2001.
- BARATI, M. et al. Evaluation of Interleukin 25 and Interleukin 25 Receptor Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Breast Cancer Patients and Normal Subjects. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 40, n. 3, p. 139–144, 2020.
- BARROS, A. J. D.; HIRAKATA, V. N. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: An empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio. **BMC**

Medical Research Methodology, v. 3, p. 1–13, 2003.

BASTID, J. et al. The Emerging Role of the IL-17B/IL-17RB Pathway in Cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. April, p. 1–7, 2020.

BATLLE, E.; MASSAGUÉ, J. Transforming Growth Factor- β Signaling in Immunity and Cancer. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 924–940, 2019.

BAXEVANIS, C. N.; FORTIS, S. P.; PEREZ, S. A. The balance between breast cancer and the immune system: Challenges for prognosis and clinical benefit from immunotherapies. **Seminars in Cancer Biology**, v. 72, n. October 2019, p. 76–89, 2021.

BELLA, G. DI; SCANFERLATO, R.; COLORI, B. Over-Expression of GH/GHR in Breast Cancer and Oncosuppressor Role of Somatostatin as a Physiological Inhibitor. **Translational Biomedicine**, v. 09, n. 03, p. 1–7, 2018.

BEN-BARUCH, A. Host microenvironment in breast cancer development. Inflammatory cells, cytokines and chemokines in breast cancer progression: Reciprocal tumor-microenvironment interactions. **Breast Cancer Research**, v. 5, n. 1, p. 31–36, 2003.

BENNETT, I. C.; GATTAS, M.; TEH, B. T. The genetic basis of breast cancer and its clinical implications. **Australian and New Zealand Journal of Surgery**, v. 69, n. 2, p. 95–105, 1999.

BERRAONDO, P. et al. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. **British Journal of Cancer**, v. 120, n. 1, p. 6–15, 2019.

BIE, Q. et al. IL-17B: A new area of study in the IL-17 family. **Molecular Immunology**, v. 90, n. May, p. 50–56, 2017.

Body mass index - BMI. 25 jan. 2021.

BORGQUIST, S.; JIRSTR, K. Anthropometric factors in relation to different tumor biological subgroups of postmenopausal breast cancer. v. 411, p. 402–411, 2009.

BRAND, S. et al. IL-28A and IL-29 mediate antiproliferative and antiviral signals in intestinal epithelial cells and murine CMV infection increases colonic IL-28A expression. p. 960–968, 2005.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.

BREASTCANCER.ORG. **Types of Breast Cancer: Non-Invasive, Invasive and More.** Disponível em: <<https://www.breastcancer.org/symptoms/types>>. Acesso em: 20 jan. 2021.

BREVI, A. et al. Much More Than IL-17A: Cytokines of the IL-17 Family Between Microbiota and Cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. November, p. 1–19, 2020.

BREWER, H. R. et al. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 165, 2017.

BRIUKHOVETSKA, D. et al. Interleukins in cancer: from biology to therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 21, n. August, 2021.

BRUCE ALBERTS, ALEXANDER JOHNSON, JULIAN LEWIS, MARTIN RAFF, KEITH ROBERTS, AND P. W. **Biologia molecular da célula**. [s.l: s.n.]. v. 5

BUJAK, J. K. et al. The expression of selected factors related to t lymphocyte activity in canine mammary tumors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 7, p. 1–19, 2020.

BUTCHER, M. J.; WASEEM, T. C.; GALKINA, E. V. Smooth Muscle Cell-Derived Interleukin-17C Plays an Atherogenic Role via the Recruitment of Proinflammatory Interleukin-17A + T Cells to the Aorta. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 36, n. 8, p. 1496–1506, 2016.

CAI, H. et al. Effects of SNPs and alternative splicing within HGF gene on its expression patterns in Qinchuan cattle. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2015.

CALVISI, D. F. et al. Ubiquitous Activation of Ras and Jak/Stat Pathways in Human HCC. **Gastroenterology**, v. 130, n. 4, p. 1117–1128, 2006.

CANCER, C. G. ON H. F. IN B. Type and timing of menopausal hormone therapy and breast cancer risk: individual participant meta-analysis of the worldwide epidemiological evidence. **The Lancet**, v. 394, n. 10204, p. 1159–1168, 2019.

CAO, Y. Tumor angiogenesis and therapy. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 59, n. SUPPL. 2, p. 340–343, 2005.

CAO, Y. et al. CXCL11 Correlates With Antitumor Immunity and an Improved Prognosis in Colon Cancer. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, n. March, p. 1–10, 2021.

CATSBURG, C.; MILLER, A. B.; ROHAN, T. E. Active cigarette smoking and risk of breast cancer. **International Journal of Cancer**, v. 136, n. 9, p. 2204–2209, 2015.

CAVALLO, F. et al. 2011: The immune hallmarks of cancer. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 60, n. 3, p. 319–326, 2011.

CHAKRAVARTY, D.; SOLIT, D. B. Clinical cancer genomic profiling. **Nature Reviews Genetics**, v. 22, n. 8, p. 483–501, 2021.

CHANG, S. H.; DONG, C. Signaling of interleukin-17 family cytokines in immunity and inflammation. **Cellular Signalling**, v. 23, n. 7, p. 1069–1075, 2011.

CHAWLA-SARKAR, M. et al. Apoptosis and interferons: Role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis. **Apoptosis**, v. 8, p. 237–249, 2003.

CHEN, B. et al. Bioinformatics identification of CCL8/21 as potential prognostic biomarkers in breast cancer microenvironment. **Bioscience Reports**, v. 40, n. 11, p. 1–20, 2020a.

CHEN, H.; BOUTROS, P. C. VennDiagram: a package for the generation of highly-

customizable Venn and Euler diagrams in R. **Bioinformatics**, v. 57, n. 5, p. 297, 2011.

CHEN, W. et al. Identification of core biomarkers associated with pathogenesis and prognostic outcomes of laryngeal squamous - cell cancer using bioinformatics analysis. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 277, n. 5, p. 1397–1408, 2020b.

CHEN, Y. Y. et al. Interleukin-19 in breast cancer. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2013, n. II, p. 1–9, 2013.

CHENG, D. et al. Epithelial interleukin-25 is a key mediator in Th2-high, corticosteroid-responsive asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 190, n. 6, p. 639–648, 2014.

CHENG, Y.-Y. et al. Increased expression of IL-28RA mRNA in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. **Clinical Rheumatology**, v. 34, n. 10, p. 1807–1811, out. 2015.

CHIN, C. H. et al. cytoHubba: Identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. **BMC Systems Biology**, v. 8, n. 4, p. 1–7, 2014.

CHLEBOWSKI, R. T. et al. Estrogen Plus Progestin and Breast Cancer Incidence and Mortality in the Women ' s Health Initiative Observational Study. v. 105, n. 8, 2013.

COMABELLA, M. et al. TNFRSF1A polymorphisms rs1800693 and rs4149584 in patients with multiple sclerosis. **Neurology**, v. 80, n. 22, p. 2010–2016, maio 2013.

CONLON, K. C.; MILJKOVIC, M. D.; WALDMANN, T. A. Cytokines in the Treatment of Cancer. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 39, n. 1, p. 6–21, 2019.

CONSORTIUM, T. G. O. Gene Ontology : tool for the. **Gene Expression**, v. 25, n. may, p. 25–29, 2000.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, p. 19–26, 2002.

CRUCERIU, D. et al. The dual role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. **Cellular Oncology**, v. 43, n. 1, p. 1–18, 2020.

DANFORTH, D. N.; SGAGIAS, M. K. Interleukin-1 α and Interleukin-6 Act Additively to Inhibit Growth of MCF-7 Breast Cancer Cells in Vitro1. v. 1, p. 1538–1546, 1993.

DASHTI, M. et al. Replication analysis of variants associated with multiple sclerosis risk. **Scientific Reports**, p. 1–7, 2020.

DE GROEN, R. A.; LIU, B.-S.; BOONSTRA, A. Understanding IFN λ in rheumatoid arthritis. **Arthritis Research & Therapy**, v. 16, n. 1, p. 102, 2014.

DE JAGER, P. L. et al. Meta-analysis of genome scans and replication identify CD6, IRF8 and TNFRSF1A as new multiple sclerosis susceptibility loci. **Nature Genetics**, v. 41, n. 7, p. 776–782, jul. 2009.

DE KRUIJF, E. M. et al. HLA-E and HLA-G Expression in Classical HLA Class I-Negative Tumors Is of Prognostic Value for Clinical Outcome of Early Breast Cancer Patients. **The**

Journal of Immunology, v. 185, n. 12, p. 7452–7459, 2010.

DE SIMONE, V. et al. Th17-type cytokines, IL-6 and TNF- α synergistically activate STAT3 and NF- κ B to promote colorectal cancer cell growth. **Oncogene**, v. 34, n. 27, p. 3493–3503, 2015.

DHIMAN, N. et al. SNP/haplotype associations in cytokine and cytokine receptor genes and immunity to rubella vaccine. **Immunogenetics**, v. 62, n. 4, p. 197–210, abr. 2010.

DING, P. et al. IL-9-producing CD8⁺ T cells represent a distinctive subset with different transcriptional characteristics from conventional CD8⁺ T cells, and partially infiltrate breast tumors. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 115, n. July, p. 105576, 2019.

DOHERTY, M. R. et al. Interferon-beta represses cancer stem cell properties in triple-negative breast cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 114, n. 52, p. 13792–13797, 2017.

DONG, C. et al. Identification of a cytokine-cytokine receptor interaction gene signature for predicting clinical outcomes in patients with colorectal cancer. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 10, n. 6, p. 9009–9018, 2017.

DOUGLAS, A. M. et al. Expression and function of members of the cytokine receptor superfamily on breast cancer cells. **Oncogene**, v. 14, n. 6, p. 661–669, 1997.

DRANOFF, G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 1, p. 11–22, 2004.

DU, J. W. et al. Interleukin-17, produced by lymphocytes, promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of breast cancer. **Molecular Medicine Reports**, v. 6, n. 5, p. 1099–1102, 2012.

DURINCK, S. et al. Mapping Identifiers for the Integration of Genomic Datasets with the R/Bioconductor package biomaRt. **Nature protocols**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2009.

ELINAV, E. et al. Inflammation-induced cancer: Crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. **Nature Reviews Cancer**, v. 13, n. 11, p. 759–771, 2013.

ELLISEN, L. W.; HABER, D. A. Hereditary breast cancer. **Annual Review of Medicine**, v. 49, n. 1, p. 425–436, 1998.

ESQUIVEL-VELÁZQUEZ, M. et al. The role of cytokines in breast cancer development and progression. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 35, n. 1, p. 1–16, 2015.

FARES, J. et al. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, 2020.

FASOULAKIS, Z. et al. Interleukins Associated with Breast Cancer. **Cureus**, v. 10, n. 11, p. 1–11, 2018.

FENG, Y. et al. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells,

signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. **Genes and Diseases**, v. 5, n. 2, p. 77–106, 2018.

FERREIRA, V. L. et al. Cytokines and Interferons: Types and Functions. **Intech**, v. i, n. tourism, p. 13, 2018.

FORD, D. et al. Genetic heterogeneity and penetrance analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in breast cancer families. **American Journal of Human Genetics**, v. 62, n. 3, p. 676–689, 1998.

FORT, M. M. et al. IL-25 Induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. **Immunity**, v. 15, n. 6, p. 985–995, 2001.

FOSSIEZ, F. et al. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. **Journal of Experimental Medicine**, v. 183, n. 6, p. 2593–2603, 1996.

FURUTA, S. et al. IL-25 causes apoptosis of IL-25R-expressing breast cancer cells without toxicity to nonmalignant cells. **Science Translational Medicine**, v. 3, n. 78, p. 1–24, 2011.

GAO, D.; FISH, E. N. Chemokines in breast cancer: Regulating metabolism. **Cytokine**, v. 109, n. October 2017, p. 57–64, 2018.

GARCÍA-TUÑÓN, I. et al. Interleukin-2 and its receptor complex (α , β and γ chains) in in situ and infiltrative human breast cancer: An immunohistochemical comparative study. **Breast Cancer Research**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2003.

GARCÍA-TUÑÓN, I. et al. Role of tumor necrosis factor- α and its receptors in human benign breast lesions and tumors (in situ and infiltrative). **Cancer Science**, v. 97, n. 10, p. 1044–1049, 2006.

GAUDET, M. M. et al. Pooled analysis of active cigarette smoking and invasive breast cancer risk in 14 cohort studies. **International Journal of Epidemiology**, v. 46, n. 3, p. 881–893, 2017.

GEBRE-MEDHIN, M. et al. Growth hormone receptor is expressed in human breast cancer. **American Journal of Pathology**, v. 158, n. 4, p. 1217–1222, 2001.

GENTLEMAN, R. C. et al. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. **Genome biology**, v. 5, n. 10, 2004.

GERHARDT, S. et al. Structure of IL-17A in Complex with a Potent, Fully Human Neutralizing Antibody. **Journal of Molecular Biology**, v. 394, n. 5, p. 905–921, 2009.

GERMANO, G. et al. Role of Macrophage Targeting in the Antitumor Activity of Trabectedin. **Cancer Cell**, v. 23, n. 2, p. 249–262, 2013.

GERMANO, G.; MANTOVANI, A.; ALLAVENA, P. Targeting of the innate immunity/inflammation as complementary anti-tumor therapies. **Annals of Medicine**, 2011.

GHIRELLI, C. et al. No evidence for TSLP pathway activity in human breast cancer. **OncoImmunology**, v. 5, n. 8, 2016.

GOLDSTEIN, D.; LASZLO, J. The Role of Interferon in Cancer Therapy: A Current Perspective. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 38, n. 5, p. 258–277, 1988.

GONZALEZ, H.; HAGERLING, C.; WERB, Z. Roles of the immune system in cancer: From tumor initiation to metastatic progression. **Genes and Development**, v. 32, n. 19–20, p. 1267–1284, 2018.

GREGORY, A. P. et al. TNF receptor 1 genetic risk mirrors outcome of anti-TNF therapy in multiple sclerosis. **Nature**, v. 488, n. 7412, p. 508–511, 2012.

GRETEN, F. R.; GRIVENNIKOV, S. I. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. **Immunity**, v. 51, n. 1, p. 27–41, 2019.

GRIFFITHS, S. J. et al. The role of interferon- λ locus polymorphisms in Hepatitis C and other infectious diseases. **Journal of Innate Immunity**, v. 7, n. 3, p. 231–242, 2015.

GU, C.; WU, L.; LI, X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. **Cytokine**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2013.

GU, X. L. et al. Expression of CXCL14 and its anticancer role in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 135, n. 3, p. 725–735, 2012.

GUGLANI, L.; KHADER, S. A. Th17 cytokines in mucosal immunity and inflammation. **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 2, p. 120–127, 2010.

GUI, Y. et al. The association between obesity related adipokines and risk of breast cancer: A meta-analysis. **Oncotarget**, v. 8, n. 43, p. 75389–75399, 2017.

GUO, Q. et al. CXCL7 promotes proliferation and invasion of cholangiocarcinoma cells. **Oncology Reports**, v. 37, n. 2, p. 1114–1122, 2017.

HAJI ABDOLVAHAB, M.; MOFRAD, M. R. K.; SCHELLEKENS, H. **Interferon Beta: From Molecular Level to Therapeutic Effects**. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. v. 326

HAMAJIMA N, HIROSE K, TAJIMA K, ROHAN T, CALLE EE, HEATH CW JR, COATES RJ, LIFF JM, TALAMINI R, CHANTARAKUL N, KOETSAWANG S, RACHAWAT D, MORABIA A, SCHUMAN L, STEWART W, SZKLO M, BAIN C, SCHOFIELD F, SISKIND V, BAND P, COLDMAN AJ, GALLAGHER RP, HISLOP TG, M. O. C. G. ON H. F. IN B. C. Alcohol, tobacco and breast cancer-collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58 515 women with breast cancer and 95 067 women without the disease Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer*. **British Journal of Cancer**, v. 87, p. 1234–1245, 2002.

HAMED, E. A.; ZAKHARY, M. M.; MAXIMOUS, D. W. Apoptosis, angiogenesis, inflammation, and oxidative stress: Basic interactions in patients with early and metastatic breast cancer. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 138, n. 6, p. 999–1009, 2012.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, n. 4, p. 57–70, 2000.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

HENGEVELD, P. J.; KERSTEN, M. J. B-cell activating factor in the pathophysiology of multiple myeloma: A target for therapy? **Blood Cancer Journal**, v. 5, n. 2, p. e282-8, 2015.

HOFFJAN, S. et al. Association of TNFAIP3 and TNFRSF1A variation with multiple sclerosis in a German case-control cohort. **International Journal of Immunogenetics**, v. 42, n. 2, p. 106–110, abr. 2015.

HOLEN, I. et al. IL-1 drives breast cancer growth and bone metastasis in vivo. **Oncotarget**, v. 7, n. 46, p. 75571–75584, 2016.

HSU, C. N. et al. Detection of the inferred interaction network in hepatocellular carcinoma from EHC0 (Encyclopedia of Hepatocellular Carcinoma genes Online). **BMC Bioinformatics**, v. 8, p. 1–12, 2007.

HSU, Y.-H. et al. Anti-IL-20 Monoclonal Antibody Suppresses Breast Cancer Progression and Bone Osteolysis in Murine Models. **The Journal of Immunology**, v. 188, n. 4, p. 1981–1991, 2012.

HU, T. et al. Overexpression of activin receptor-like kinase 7 in breast cancer cells is associated with decreased cell growth and adhesion. **Anticancer Research**, v. 37, n. 7, p. 3441–3451, 2017.

HUANG, C. K. et al. Autocrine/paracrine mechanism of interleukin-17B receptor promotes breast tumorigenesis through NF- κ B-mediated antiapoptotic pathway. **Oncogene**, v. 33, n. 23, p. 2968–2977, 2014.

HUANG, P. et al. BMP-2 induces EMT and breast cancer stemness through Rb and CD44. **Cell Death Discovery**, v. 3, n. 1, 2017.

HUYTON, T. et al. An unusual cytokine : Ig-domain interaction revealed in the crystal structure of leukemia inhibitory factor (LIF) in complex with the LIF receptor. v. 104, n. 31, p. 12737–12742, 2007.

INSTITUTE, N. C. **What Is Cancer? - National Cancer Institute**. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>>. Acesso em: 20 jan. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA.
Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil. [s.l: s.n.].

IORNS, E. et al. Whole genome in vivo RNAi screening identifies the leukemia inhibitory factor receptor as a novel breast tumor suppressor. p. 79–91, 2012.

IYENGAR, N. M.; HUDIS, C. A.; DANNENBERG, A. J. Obesity and Cancer: Local and Systemic Mechanisms. **Annual Review of Medicine**, v. 66, n. 1, p. 297–309, 2015.

JAVOR, J. et al. TNFRSF1A polymorphisms and their role in multiple sclerosis susceptibility and severity in the Slovak population. **International Journal of Immunogenetics**, v. 45, n. 5, p. 257–265, 2018.

- JIANG, L. et al. Association of TNF- α , TNFRSF1A and TNFRSF1B gene polymorphisms with the risk of gastric cancer in Chinese population. **Int J Clin Exp Med**, v. 10, n. 8, p. 12483–12491, 2017a.
- JIANG, P. et al. CD137 promotes bone metastasis of breast cancer by enhancing the migration and osteoclast differentiation of monocytes/macrophages. **Theranostics**, v. 9, n. 10, p. 2950–2966, 2019.
- JIANG, X.; HAO, Y. Analysis of expression profile data identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma. **ONCOLOGY LETTERS**, v. 15, p. 2625–2630, 2018.
- JIANG, Z. et al. IL-25 blockade inhibits metastasis in breast cancer. **Protein and Cell**, v. 8, n. 3, p. 191–201, 2017b.
- JIN, T. Y. et al. LEP as a potential biomarker in prognosis of breast cancer. **Medicine**, v. 100, n. 33, p. e26896, 2021.
- JOHANSEN, C. et al. Tumor necrosis factor α -mediated induction of interleukin 17C in human keratinocytes is controlled by nuclear factor κ B. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 29, p. 25487–25494, 2011.
- JONES, M. E. et al. Smoking and risk of breast cancer in the Generations Study cohort. p. 1–14, 2017.
- JOSEPH, C. et al. Elevated MMP9 expression in breast cancer is a predictor of shorter patient survival. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 182, n. 2, p. 267–282, 2020.
- JUNG, S. et al. Alcohol consumption and breast cancer risk by estrogen receptor status: In a pooled analysis of 20 studies. **International Journal of Epidemiology**, v. 45, n. 3, p. 916–928, 2016.
- JUNGNICKEL, C. et al. IL-17C mediates the recruitment of tumor-associated neutrophils and lung tumor growth. **Oncogene**, v. 36, n. 29, p. 4182–4190, 2017.
- KAEWKANGSADAN, V. et al. Crucial Contributions by T Lymphocytes (Effector, Regulatory, and Checkpoint Inhibitor) and Cytokines (TH1, TH2, and TH17) to a Pathological Complete Response Induced by Neoadjuvant Chemotherapy in Women with Breast Cancer. **Journal of Immunology Research**, v. 2016, p. 4–7, 2016.
- KANEHISA, M. et al. KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs. **Nucleic Acids Research**, v. 38, n. SUPPL.1, p. 355–360, 2009.
- KARTIKASARI, A. E. R. et al. Tumor-Induced Inflammatory Cytokines and the Emerging Diagnostic Devices for Cancer Detection and Prognosis. **Frontiers in Oncology**, v. 11, n. July, p. 1–16, 2021.
- KATSUTA, E. et al. High expression of bone morphogenetic protein (BMP) 6 and BMP7 are associated with higher immune cell infiltration and better survival in estrogen receptor-positive breast cancer. **Oncology Reports**, v. 42, n. 4, p. 1413–1421, 2019.
- KATZKE, V. A.; KAAKS, R.; KÜHN, T. Lifestyle and Cancer Risk. p. 104–110, 2015.

- KAWAGUCHI, K. et al. Alteration of specific cytokine expression patterns in patients with breast cancer. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2019.
- KENEMANS, P.; VERSTRAETEN, R. A.; VERHEIJEN, R. H. M. Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer. **Maturitas**, v. 49, n. 1, p. 34–43, 2004.
- KISPERT, S.; MCHOWAT, J. Recent insights into cigarette smoking as a lifestyle risk factor for breast cancer. **Breast Cancer: Targets and Therapy**, v. 9, p. 127–132, 2017.
- KOLLS, J. K.; LINDÉN, A. Interleukin-17 family members and inflammation. **Immunity**, v. 21, n. 4, p. 467–476, 2004.
- KOTEPUI, M. et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-13 in association with invasion of breast cancer. **Wspolczesna Onkologia**, v. 20, n. 3, p. 225–228, 2016.
- KULAKOVA, O. G. et al. Analysis of Associations of Polymorphisms of Genes Encoding Cytokine Receptors with the Clinical Features of Multiple Sclerosis. **Neuroscience and Behavioral Physiology**, v. 48, n. 3, p. 337–341, mar. 2018.
- KUMAR, M. et al. NF- κ B Regulates Mesenchymal Transition for the Induction of Non-Small Cell Lung Cancer Initiating Cells. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1–10, 2013.
- KUNDU, J. K.; SURH, Y. J. Inflammation: Gearing the journey to cancer. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 659, n. 1–2, p. 15–30, 2008.
- LAN, T.; CHEN, L.; WEI, X. Inflammatory Cytokines in Cancer: Comprehensive Understanding and Clinical Progress in Gene Therapy. **Cells**, v. 10, 2021.
- LANDSKRON, G. et al. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. **Journal of Immunology Research**, v. 2014, 2014.
- LANGFELDER, P.; HORVATH, S. WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis. **BMC Bioinformatics**, v. 9, 2008.
- LANGRISH, C. L. et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 201, n. 2, p. 233–240, 2005.
- LAPREVOTTE, E. et al. The IL-17B-IL-17 receptor B pathway promotes resistance to paclitaxel in breast tumors through activation of the ERK1/2 pathway. **Oncotarget**, v. 8, n. 69, p. 113360–113372, 2017.
- LARSEN, M. J. et al. Hereditary breast cancer: Clinical, Pathological and molecular characteristics. **Breast Cancer: Basic and Clinical Research**, v. 8, p. 145–155, 2014.
- LASFAR, A. et al. Interferon Lambda: Toward a Dual Role in Cancer. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 39, n. 1, p. 22–29, 2019.
- LECERF, C. et al. Immune gene expression in head and neck squamous cell carcinoma patients. **European Journal of Cancer**, v. 121, p. 210–223, 2019.
- LEE, A.; MOON, B. I.; KIM, T. H. BRCA1/BRCA2 pathogenic variant breast cancer: Treatment and prevention strategies. **Annals of Laboratory Medicine**, v. 40, n. 2, p. 114–

121, 2020.

LEE, J. et al. IL-17E, a novel proinflammatory ligand for the IL-17 receptor homolog IL-17Rh1. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 2, p. 1660–1664, 2001.

LEEK, R. D. et al. Association of tumour necrosis factor alpha and its receptors with thymidine phosphorylase expression in invasive breast carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 77, n. 12, p. 2246–2251, 1998.

LEREBOURS, F.; LIDEREAU, R. Molecular alterations in sporadic breast cancer. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 44, n. 2, p. 121–141, 2002.

LI, B. et al. Low levels of tumor necrosis factor α increase tumor growth by inducing an endothelial phenotype of monocytes recruited to the tumor site. **Cancer Research**, v. 69, n. 1, p. 338–348, 2009a.

LI, H. et al. two new members of the IL-17 cytokine family. v. 97, n. 2, p. 1–6, 2000.

LI, K. et al. The immunotherapy candidate TNFSF4 may help the induction of a promising immunological response in breast carcinomas. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2021.

LI, M. et al. Interferon- λ s: the modulators of antiviral, antitumor, and immune responses. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 86, n. 1, p. 23–32, jul. 2009b.

LI, X. et al. IL-17 receptor–based signaling and implications for disease. **Nature Immunology**, v. 20, n. 12, p. 1594–1602, 2019.

LI, Y. et al. Association analyses identifying two common susceptibility loci shared by psoriasis and systemic lupus erythematosus in the Chinese Han population. p. 812–818, 2013.

LI, Y. et al. Transcriptional Expressions of CXCL9/10/12/13 as Prognosis Factors in Breast Cancer. **Journal of Oncology**, v. 2020, 2020.

LIAO, R. et al. High expression of IL-17 and IL-17RE associate with poor prognosis of hepatocellular carcinoma. **Journal of Experimental and Clinical Cancer Research**, v. 32, n. 1, p. 1–11, 2013.

LIAO, S. et al. TGF- β blockade controls ascites by preventing abnormalization of lymphatic vessels in orthotopic human ovarian carcinoma models. **Clinical Cancer Research**, v. 17, n. 6, p. 1415–1424, 2011.

LINDÉN, A.; LAAN, M.; ANDERSON, G. P. Neutrophils, interleukin-17A and lung disease. **European Respiratory Journal**, v. 25, n. 1, p. 159–172, 2005.

LIPSEY, C. C. et al. Oncogenic role of leptin and Notch interleukin-1 leptin crosstalk outcome in cancer. **World Journal of Methodology**, v. 6, n. 1, p. 43, 2016.

LIU, J. et al. Significance of interleukin-33 and its related cytokines in patients with breast cancers. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. APR, p. 1–7, 2014.

LIU, X.; SUN, S.; LIU, D. IL-17D: A Less Studied Cytokine of IL-17 Family. **International**

Archives of Allergy and Immunology, v. 181, n. 8, p. 618–623, 2020.

LIU, Z. et al. An 18-gene signature based on glucose metabolism and DNA methylation improves prognostic prediction for urinary bladder cancer. **Genomics**, v. 113, n. 1, p. 896–907, 2021.

LOPEZ DE LAPUENTE, A. et al. Analysis of the IL28RA locus as genetic risk factor for multiple sclerosis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 245, n. 1–2, p. 98–101, 2012a.

LOPEZ DE LAPUENTE, A. et al. Analysis of the IL28RA locus as genetic risk factor for multiple sclerosis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 245, n. 1–2, p. 98–101, abr. 2012b.

LOVE, M. I.; HUBER, W.; ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. **Genome Biology**, v. 15, n. 12, p. 1–21, 2014.

LU, C. et al. Type I interferon suppresses tumor growth through activating the STAT3-granzyme B pathway in tumor-infiltrating cytotoxic T lymphocytes. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2019.

LU, H.; OUYANG, W.; HUANG, C. Inflammation, a key event in cancer development. **Molecular Cancer Research**, v. 4, n. 4, p. 221–233, 2006.

LUBOSHITS, G. et al. Elevated expression of the CC chemokine regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) in advanced breast carcinoma. **Cancer Research**, v. 59, n. 18, p. 4681–4687, 1999.

LUO, J. et al. Association of active and passive smoking with risk of breast cancer among postmenopausal women : a prospective cohort study. **British Medical Journal**, 2011.

MA, N. et al. Role of Functional IFNL4, IFNLR1, IFNA, IFNAR2 Polymorphisms in Hepatitis B virus-related liver disease in Han Chinese population. **Journal of Viral Hepatitis**, v. 25, n. 3, p. 306–313, 2017.

MACACU, A. et al. Active and passive smoking and risk of breast cancer : a meta-analysis. **Breast Cancer Research and Treatment**, 2015.

MAHDAVI, M. et al. Hereditary breast cancer; Genetic penetrance and current status with BRCA. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 5, p. 5741–5750, 2019.

MANTOVANI, A. et al. IL-1 and related cytokines in innate and adaptive immunity in health and disease. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 778, 2019.

MARIATHASAN, S. et al. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. **Nature**, 2018.

MARSON, A. et al. Connecting microRNA Genes to the Core Transcriptional Regulatory Circuitry of Embryonic Stem Cells. **Cell**, v. 134, n. 3, p. 521–533, 2008.

MCGEACHY, M. J.; CUA, D. J.; GAFFEN, S. L. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 892–906, 2019.

MCNAB, F. et al. Type I interferons in infectious disease. **Nature Reviews Immunology**, v.

15, n. 2, p. 87–103, 2015.

MEAGER, A. et al. Biological activity of interleukins-28 and -29 : Comparison with type I interferons. v. 31, 2005.

MEHNER, C. et al. Tumor cell expression of MMP3 as a prognostic factor for poor survival in pancreatic, pulmonary, and mammary carcinoma. **Genes & Cancer**, v. 6, n. 11–12, p. 480–489, 2015.

MIYOSHI, Y. et al. High expression of leptin receptor mRNA in breast cancer tissue predicts poor prognosis for patients with high, but not low, serum leptin levels. **International Journal of Cancer**, v. 118, n. 6, p. 1414–1419, 2006.

MOMENIMOVAHED, Z.; SALEHINIYA, H. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. p. 151–164, 2019.

MONIN, L.; GAFFEN, S. L. Interleukin 17 Family Cytokines : Signaling and Therapeutic Implications. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, p. 1–18, 2017.

MOSELEY, T. A. et al. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 14, n. 2, p. 155–174, 2003.

MOUDGIL, K. D.; CHOUBEY, D. Cytokines in autoimmunity: Role in induction, regulation, and treatment. **Journal of Interferon and Cytokine Research**, v. 31, n. 10, p. 695–703, 2011.

MÜLLER, A. et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. **Nature**, v. 410, n. 6824, p. 50–56, 2001.

NAM, J. S. et al. Transforming growth factor β subverts the immune system into directly promoting tumor growth through interleukin-17. **Cancer Research**, v. 68, n. 10, p. 3915–3923, 2008.

NEUHOUSER, M. L. et al. HHS Public Access. v. 1, n. 5, p. 611–621, 2016.

NI, L.; LU, J. Interferon gamma in cancer immunotherapy. **Cancer Medicine**, v. 7, n. 9, p. 4509–4516, 2018.

NICOLINI, A.; CARPI, A.; ROSSI, G. Cytokines in breast cancer. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 17, n. 5, p. 325–337, 2006.

NIEMIRA, M. et al. Molecular signature of subtypes of non-small-cell lung cancer by large-scale transcriptional profiling: Identification of key modules and genes by weighted gene co-expression network analysis (WGCNA). **Cancers**, v. 12, n. 1, 2020.

NIWA, Y. et al. Methylation silencing of SOCS-3 promotes cell growth and migration by enhancing JAK/STAT and FAK signalings in human hepatocellular carcinoma. **Oncogene**, v. 24, n. 42, p. 6406–6417, 2005.

NUMASAKI, M. et al. IL-28 Elicits Antitumor Responses against Murine Fibrosarcoma. **The Journal of Immunology**, v. 178, n. 8, p. 5086–5098, abr. 2007.

O'SHEA, J. J.; GADINA, M.; SIEGEL, R. Cytokines and cytokine receptors. **Clinical Immunology**, v. 4, p. 108–135, 2013.

O'SULLIVAN, T. et al. Interleukin-17D mediates tumor rejection through recruitment of natural killer cells. **Cell Reports**, v. 7, n. 4, p. 989–998, 2014.

OUYANG, W.; KOLLS, J. K.; ZHENG, Y. The Biological Functions of T Helper 17 Cell Effector Cytokines in Inflammation. **Immunity**, v. 28, n. 4, p. 454–467, 2008.

PARCESEPE, P. et al. Cancer-Associated Immune Resistance and Evasion of Immune Surveillance in Colorectal Cancer. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2016, 2016.

PARK, T. J. et al. Associations of CD6, TNFRSF1A and IRF8 polymorphisms with risk of inflammatory demyelinating diseases. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 39, n. 5, p. 519–530, 2013.

PARKER, B. S.; RAUTELA, J.; HERTZOG, P. J. Antitumour actions of interferons: Implications for cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 16, n. 3, p. 131–144, 2016.

PARKIN, J.; COHEN, B. An overview of the immune system. **Immunology**, v. 357, p. 1777–1789, 2001.

PEARSON, K. LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, v. 2, n. 11, p. 559–572, 1 nov. 1901.

PEDROZA-GONZALEZ, A. et al. Thymic stromal lymphopoietin fosters human breast tumor growth by promoting type 2 inflammation. **Journal of Experimental Medicine**, v. 208, n. 3, p. 479–490, 2011.

PETRUCELLI, N.; DALY, M. B.; FELDMAN, G. L. Hereditary breast and ovarian cancer due to mutations in BRCA1 and BRCA2. **Genetics in Medicine**, v. 12, n. 5, p. 245–259, 2010.

PFEIFER, P. et al. IL-17C is a mediator of respiratory epithelial innate immune response. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 48, n. 4, p. 415–421, 2013.

PINHEIRO, A. B. et al. Associação entre índice de massa corpórea e câncer de mama em pacientes de Salvador, Bahia. 2015.

PLITAS, G. et al. Regulatory T cells exhibit distinct features in human breast cancer. **Immunity**, v. 45, n. 5, p. 1122–1134, 2016.

POMERANTZ, M. M.; FREEDMAN, M. L. The genetics of cancer risk. **Cancer Journal**, v. 17, n. 6, p. 416–422, 2011.

PROTANI, M.; COORY, M.; MARTIN, J. H. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-Analysis. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 123, n. 3, p. 627–635, 2010.

PUNT, S. et al. The correlations between IL-17 vs. Th17 cells and cancer patient survival: a

systematic review. 2015.

QIAN, X. L. et al. Increased number of intratumoral IL-17+ cells, a harbinger of the adverse prognosis of triple-negative breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 180, n. 2, p. 311–319, 2020.

QUINN, K. M. et al. Impact of age-, cancer-, and treatment-driven inflammation on T cell function and immunotherapy. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 108, n. 3, p. 953–965, 2020.

R CORE TEAM (2020). **R: The R Project for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 8 abr. 2021.

RAHIB, L. et al. Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. **JAMA Network Open**, v. 4, n. 4, p. 1–14, 2021.

RAHMAN, F. et al. A multi-omics approach to reveal the key evidence of GDF10 as a novel therapeutic biomarker for breast cancer. **Informatics in Medicine Unlocked**, v. 21, p. 100463, 2020.

RAKHA, E. A. et al. Biologic and Clinical Characteristics of Breast Cancer With Single Hormone Receptor – Positive Phenotype. v. 25, n. 30, 2019.

RICKEL, E. A. et al. Identification of Functional Roles for Both IL-17RB and IL-17RA in Mediating IL-25-Induced Activities. **The Journal of Immunology**, v. 181, p. 4299–4310, 2008.

RINGNÉR, M. What is principal component analysis? **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 303–304, 2008.

ROBIN, X. et al. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. **BMC Bioinformatics**, v. 8, p. 12–77, 2011.

ROSE-JOHN, S.; SCHOOLTINK, H. Cytokines Are a Therapeutic Target for the Prevention of Inflammation-Induced Cancers. **Cancer Research**, v. 174, 2007.

ROT, A.; VON ANDRIAN, U. H. Chemokines in innate and adaptive host defense: Basic chemokines grammar for immune cells. **Annual Review of Immunology**, v. 22, p. 891–928, 2004.

ROUSSET, F.; RAYMOND, M. Sweat Chloride Testing in Infants Identified as Heterozygote Carriers by Newborn Screening. **Genetics Society of America**, v. 140, p. 1413–1419, 1995.

ROUVIER, E. et al. Erratum: CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene (J. Immunol. (1993) 150(12) (5445–5456)). **International Reviews of Immunology**, v. 18, n. 4, p. i, 1993.

SADDAWI-KONEFKA, R. et al. Nrf2 Induces IL-17D to Mediate Tumor and Virus Surveillance. **Cell Reports**, v. 16, n. 9, p. 2348–2358, 2016.

SALM, F. et al. The Phosphoinositide 3-Kinase p110 α Isoform Regulates Leukemia

Inhibitory Factor Receptor Expression via c-Myc and miR-125b to Promote Cell Proliferation in Medulloblastoma. p. 1–20, 2015.

SAMAVAT, H.; KURZER, M. S. Estrogen metabolism and breast cancer. **Cancer Letters**, v. 356, n. 2, p. 231–243, 2015.

SANDERS, A. J. et al. IL-17B can impact on endothelial cellular traits linked to tumour angiogenesis. **Journal of Oncology**, v. 2010, 2010.

SANGUINETTI, A. et al. Interleukin-6 and pro inflammatory status in the breast tumor microenvironment. p. 4–9, 2015.

SANTIBAÑEZ, J. F. S.; QUINTANILLA, M.; BERNABEU, C. TGF- β /TGF- β receptor system and its role in physiological and pathological conditions. **Clinical Science**, v. 121, n. 6, p. 233–251, 2011.

SARVAIYA, P. J. et al. Chemokines in tumor progression and metastasis. **Oncotarget**, v. 4, n. 12, p. 2171–2185, 2013.

SCOTT, I. C. et al. Predicting the Risk of Rheumatoid Arthritis and Its Age of Onset through Modelling Genetic Risk Variants with Smoking. v. 9, n. 9, 2013.

SEGURA, E. et al. Human Inflammatory Dendritic Cells Induce Th17 Cell Differentiation. **Immunity**, v. 38, n. 2, p. 336–348, 2013.

SHAN, Y. et al. Ubiquitin-Like Modifier Activating Enzyme 1 as a Novel Diagnostic and Prognostic Indicator That Correlates With Ferroptosis and the Malignant Phenotypes of Liver Cancer Cells. **Frontiers in Oncology**, v. 10, n. December, p. 1–15, 2020.

SHAO, X. Q. et al. Associations of TNFRSF1A Polymorphisms with Autoimmune Thyroid Diseases: A Case-Control Study. **Hormone and Metabolic Research**, v. 50, n. 2, p. 117–123, 2018.

SHARMA, B. et al. Targeting CXCR1/CXCR2 receptor antagonism in malignant melanoma. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 14, n. 4, p. 435–442, 2010.

SHEN, C. J. et al. MMP1 expression is activated by Slug and enhances multi-drug resistance (MDR) in breast cancer. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–13, 2017.

SHEN, W. et al. CCL16 maintains stem cell-like properties in breast cancer by activating CCR2/GSK3 β / β -catenin/OCT4 axis. **Theranostics**, v. 11, n. 5, p. 2297–2317, 2021.

SHEPPARD, P. et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. **Nature Immunology**, v. 4, n. 1, p. 63–68, 2003.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2020. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 70, n. 1, p. 7–30, 2020.

SLEDGE, G. W.; MILLER, K. D. Exploiting the hallmarks of cancer: The future conquest of breast cancer. **European Journal of Cancer**, v. 39, n. 12, p. 1668–1675, 2003.

SONG, X. et al. IL-17RE is the functional receptor for IL-17C and mediates mucosal

- immunity to infection with intestinal pathogens. **Nature Immunology**, v. 12, n. 12, p. 1151–1158, 2011.
- SONG, X. et al. Alterations in the microbiota drive interleukin-17c production from intestinal epithelial cells to promote tumorigenesis. **Immunity**, v. 40, n. 1, p. 140–152, 2014.
- SONG, X.; WEI, C.; LI, X. The potential role and status of IL-17 family cytokines in breast cancer. **International Immunopharmacology**, v. 95, p. 107544, 2021.
- SORIA, G. et al. Inflammatory mediators in breast cancer: Coordinated expression of TNF α & IL-1 β with CCL2 & CCL5 and effects on epithelial-to-mesenchymal transition. **BMC Cancer**, v. 11, p. 1–20, 2011.
- SPELLMAN, A.; TANG, S. C. Immunotherapy for breast cancer: past, present, and future. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 35, n. 4, p. 525–546, 2016.
- STARNEs, T. et al. Cutting Edge: IL-17D, a Novel Member of the IL-17 Family, Stimulates Cytokine Production and Inhibits Hemopoiesis. **The Journal of Immunology**, v. 169, n. 2, p. 642–646, 2002.
- STENDAHL, M. et al. High progesterone receptor expression correlates to the effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer patients. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 15, p. 4614–4618, 2006.
- STOREY, J. D. A direct approach to false discovery rates. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B: Statistical Methodology**, v. 64, n. 3, p. 479–498, 2002.
- STRANGE, A. et al. Genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. **Nat Genet.**, v. 42, n. 11, p. 985–990, 2010.
- SUI, L. J. et al. Aberrant expression of BMP8A and the BMPRs involves in the progression of breast cancer. **British Journal of Surgery**, v. 108, 2021.
- SUN, X. et al. Tumor suppressor HIC1 is synergistically compromised by cancer-associated fibroblasts and tumor cells through the IL-6/pSTAT3 axis in breast cancer. **BMC Cancer**, v. 19, n. 1, p. 1–11, 2019.
- SUSUMU HONMA et al. The Influence of Inflammatory Cytokines on Estrogen Production and Cell Proliferation in Human Breast Cancer Cells. **Endocrine Journal**, v. 49, p. 371–377, 2002.
- SWETS, J. A. Indices of Discrimination or Diagnostic Accuracy. Their ROCs and Implied Models. **Psychological Bulletin**, v. 99, n. 1, p. 100–117, 1986.
- THE UNION INTERNATIONAL CANCER CONTROL. New Global Cancer Data: GLOBOCAN 2018 | UICC. **Geneva, Switzerland, 12 September 2018**, n. September, p. 1, 2018.
- TIAN, Z. et al. Identification of important modules and biomarkers in breast cancer based on WGCNA. **OncoTargets and Therapy**, v. 13, p. 6805–6817, 2020.

TONG, H. et al. Identification of Interleukin-9 Producing Immune Cells in Endometrial Carcinoma and Establishment of a Prognostic Nomogram. **Frontiers in Immunology**, v. 11, n. November, p. 1–12, 2020.

TOY, D. et al. Cutting Edge: Interleukin 17 Signals through a Heteromeric Receptor Complex. **The Journal of Immunology**, v. 177, n. 1, p. 36–39, 2006.

TURNER, M. D. et al. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research**, v. 1843, n. 11, p. 2563–2582, 2014.

VERNOCCHI, P. et al. Network analysis of gut microbiome and metabolome to discover microbiota-linked biomarkers in patients affected by non-small cell lung cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, p. 1–19, 2020.

VOGELSTEIN, B. et al. **Cancer Genome Landscapes**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://science.sciencemag.org/>>.

WAN, Q. et al. Co-expression modules construction by WGCNA and identify potential prognostic markers of uveal melanoma. **Experimental Eye Research**, v. 166, n. October 2017, p. 13–20, 2018.

WANG, J. et al. The expression status of INHBA as a prognostic marker for human breast cancer. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 9, n. 11, p. 11334–11342, 2016.

WANG, L. N. et al. Interleukin 21 and its receptor play a role in proliferation, migration and invasion of breast cancer cells. **Cancer Genomics and Proteomics**, v. 12, n. 5, p. 211–222, 2015.

WANG, Q.-M. et al. MMP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancer tissues and the knockdown of MMP-1 expression inhibits tumor cell malignant behaviors in vitro. **Oncology Letters**, v. 17, n. 6, p. 1732–1740, 2019.

WANG, R.; HUANG, K. CCL11 increases the proportion of CD4+CD25+Foxp3+ Treg cells and the production of IL-2 and TGF- β by CD4+ T cells via the STAT5 signaling pathway. **Molecular Medicine Reports**, v. 21, n. 6, p. 2522–2532, 2020.

WATKINS, L. R.; MAIER, S. F.; GOEHLER, L. E. Immune activation: the role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states. **Pain**, v. 63, n. 3, p. 289–302, 1995.

WATTS, L. et al. The severity of ankylosing spondylitis and responses to anti-tumour necrosis factor biologics are not influenced by the tumour necrosis factor receptor polymorphism incriminated in multiple sclerosis. **Genes and Immunity**, v. 20, n. 2, p. 167–171, 2019.

WEINSTEIN, J. N. et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer Analysis Project. **Nature Genetics**, v. 296, n. 16, p. 1958, 2013.

WELTE, T.; ZHANG, X. H. F. Interleukin-17 could promote breast cancer progression at several stages of the disease. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.

WINTERS, S. et al. **Breast Cancer Epidemiology , Prevention , and Screening**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. v. 151

WOOSTER, R. et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. **Nature**, v. 378, n. 7, p. 789–792, 1995.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer Today**. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>>. Acesso em: 20 jan. 2021.

XU, F. et al. Association of TNF- α , TNFRSF1A and TNFRSF1B gene polymorphisms with the risk of sporadic breast cancer in northeast Chinese Han women. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.

YAN, L. et al. IL-21R functions as an oncogenic factor and is regulated by the lncRNA MALAT1/miR-125a-3p axis in gastric cancer. **International Journal of Oncology**, v. 54, n. 1, p. 7–16, 2019.

YANG, F.; ZHAO, Z.; ZHAO, N. Clinical implications of tumor necrosis factor receptor 2 in breast cancer. **Oncology Letters**, v. 14, n. 2, p. 2393–2398, 2017.

YANG, L. et al. Integrative genomic analyses on IL28RA , the common receptor of interferon- γ 1 , - γ 2 and - γ 3. n. 19, p. 807–812, 2010.

YANG, Q. et al. Investigation of 20 non-HLA (human leucocyte antigen) psoriasis susceptibility loci in Chinese patients with psoriatic arthritis and psoriasis vulgaris. **British Journal of Dermatology**, v. 168, n. 5, p. 1060–1065, maio 2013.

YANG, X. R. et al. Associations of breast cancer risk factors with tumor subtypes: A pooled analysis from the breast cancer association consortium studies. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 103, n. 3, p. 250–263, 2011.

YANG, Z. et al. Development of a macrophages-related 4-gene signature and nomogram for the overall survival prediction of hepatocellular carcinoma based on WGCNA and LASSO algorithm. **International Immunopharmacology**, v. 90, n. October 2020, p. 107238, 2021.

YE, Z. et al. Bioinformatics Analysis Reveals an Association Between Cancer Cell Stemness, Gene Mutations, and the Immune Microenvironment in Stomach Adenocarcinoma. **Frontiers in Genetics**, v. 11, n. December, p. 1–16, 2020.

YIN, X. et al. Identification of key modules and genes associated with breast cancer prognosis using WGCNA and ceRNA network analysis. **Aging**, v. 13, n. 2, p. 2519–2538, 2021.

YU, G. et al. ClusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters. **OMICS A Journal of Integrative Biology**, v. 16, n. 5, p. 284–287, 2012.

YU, G. et al. DOSE: An R/Bioconductor package for disease ontology semantic and enrichment analysis. **Bioinformatics**, v. 31, n. 4, p. 608–609, 2015.

YU, J. J. et al. **An essential role for IL-17 in preventing pathogen-initiated bone destruction:recruitment of neutrophils to inflamed bone requires IL-17 receptor–dependentsignals**, 2007.

ZAMARRON, B. F.; CHEN, W. Dual Roles of Immune Cells and Their Factors in Cancer Development and Progression. **International Journal of Biological Sciences**, v. 7(5), p. 651–658, 2011.

ZENDEHDEL, M. et al. Subtypes of benign breast disease as a risk factor of breast cancer: A systematic review and meta analyses. **Iranian Journal of Medical Sciences**, v. 43, n. 4, p. 355–364, 2018.

ZHANG, B.; HORVATH, S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis. **Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology**, v. 4, n. 1, 2005.

ZHANG, F. et al. Over-expression of CXCL2 is associated with poor prognosis in patients with ovarian cancer. **Medicine (United States)**, v. 100, n. 4, p. 1–6, 2021.

ZHENG, G.; ZHANG, C.; ZHONG, C. Identification of potential prognostic biomarkers for breast cancer using WGCNA and PPI integrated techniques. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 50, n. 960, p. 151675, 2021.

ZHOU, T. et al. GDF10 inhibits proliferation and epithelial-mesenchymal transition in triple-negative breast cancer via upregulation of Smad7. **Aging**, v. 11, n. 10, p. 3298–3314, 2019.

ZHU, M. et al. CCL14 serves as a novel prognostic factor and tumor suppressor of HCC by modulating cell cycle and promoting apoptosis. **Cell Death and Disease**, v. 10, n. 11, 2019a.

ZHU, Z. et al. Co-expression Network Analysis Identifies Four Hub Genes Associated With Prognosis in Soft Tissue Sarcoma. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. February, p. 1–10, 2019b.

ZITZMANN, K. et al. Novel interferon- γ induce antiproliferative effects in neuroendocrine tumor cells. v. 344, p. 1334–1341, 2006.

APÊNDICE A – GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS

Tabela S1 – Genes diferencialmente expressos (GDE) e valores de *log2FoldChange* e *p* valor ajustado.

Gene	<i>log2FoldChange</i>	<i>p</i> valor ajustado	Gene	<i>log2FoldChange</i>	<i>p</i> valor ajustado
<i>RPPH1</i>	9.237240705	5.09E-06	<i>PAX2</i>	2.182603277	1.08E-14
<i>SNORA57</i>	8.508497346	3.67E-26	<i>RAETIL</i>	2.182318192	1.81E-10
<i>SNORD15B</i>	8.456950939	3.67E-12	<i>STIL</i>	2.180853317	1.22E-83
<i>SCARNA5</i>	8.381705558	3.93E-17	<i>CTXN1</i>	2.180432641	2.08E-45
<i>CST4</i>	8.230880399	1.48E-78	<i>HSH2D</i>	2.180110283	1.54E-45
<i>SNORD22</i>	8.114787164	0.000367713	<i>LPO</i>	2.177637798	3.87E-08
<i>SNORD97</i>	8.078976003	3.23E-18	<i>IL28B</i>	2.173341718	0.000450841
<i>SNORA23</i>	7.963992639	2.05E-16	<i>PGK2</i>	2.172566906	0.000359321
<i>SNORA74B</i>	7.962422503	9.65E-13	<i>NXPH4</i>	2.169857878	7.61E-26
<i>SNORD10</i>	7.86441349	2.18E-20	<i>CCNO</i>	2.168984045	1.41E-22
<i>SNORA72</i>	7.777599003	4.18E-06	<i>TACC3</i>	2.168425063	2.50E-79
<i>CASP14</i>	7.756925279	9.96E-33	<i>UPK2</i>	2.167564772	3.11E-13
<i>SNORA24</i>	7.636662683	2.90E-08	<i>FGFR3</i>	2.162581297	3.02E-25
<i>C1orf105</i>	7.600344811	6.74E-08	<i>FAM75A3</i>	2.162494326	0.000294645
<i>IBSP</i>	7.54885709	1.05E-134	<i>MORN3</i>	2.161584597	3.00E-35
<i>COL10A1</i>	7.449572341	0	<i>P2RX2</i>	2.161273935	2.65E-05
<i>ACTL8</i>	7.438589432	1.56E-45	<i>PAR6B</i>	2.160493784	2.14E-25
<i>HIST1H3B</i>	7.251121332	1.24E-28	<i>DCDC1</i>	2.15798505	6.69E-20
<i>SNORA11</i>	7.211864564	0.011463655	<i>SEPT12</i>	2.156893763	1.12E-13
<i>KLHL1</i>	7.181907413	3.79E-11	<i>ELAVL3</i>	2.156597003	8.12E-09
<i>TRPA1</i>	7.162382673	2.69E-69	<i>MAPK15</i>	2.156553139	1.90E-21
<i>SNORA74A</i>	7.162019348	3.84E-15	<i>NUAK2</i>	2.155519161	6.93E-88
<i>SCARNA6</i>	7.157733766	4.85E-27	<i>LRG1</i>	2.155328941	2.59E-23
<i>SNORA81</i>	7.096746074	6.40E-23	<i>ATP6V0D2</i>	2.154504088	4.51E-05
<i>GNAT3</i>	7.021637231	3.22E-08	<i>ZG16</i>	2.15232429	0.010578147
<i>MAGEA12</i>	6.975794302	1.94E-09	<i>OGDHL</i>	2.150517188	4.75E-07
<i>COL11A1</i>	6.896873844	2.42E-230	<i>JPH3</i>	2.150303759	1.69E-20
<i>SNORA6</i>	6.881249854	0.000332504	<i>PHGR1</i>	2.150019919	3.04E-05
<i>MAGEA1</i>	6.869425606	1.87E-19	<i>CALR3</i>	2.147135549	8.53E-10
<i>SNORD94</i>	6.808282943	3.71E-09	<i>KCNK9</i>	2.146027372	4.39E-18
<i>SNORA21</i>	6.807113618	0.002648829	<i>FIBCD1</i>	2.143802735	2.09E-10
<i>CST1</i>	6.796287879	1.90E-81	<i>GPR19</i>	2.141787326	2.20E-46
<i>HIST1H3F</i>	6.78356804	1.08E-14	<i>AACSL</i>	2.141337577	4.87E-06
<i>TEX19</i>	6.764687487	8.61E-40	<i>IGF2BP3</i>	2.141190207	8.03E-06
<i>SNORA5A</i>	6.751586918	0.001859594	<i>MYBL1</i>	2.139597058	3.17E-38
<i>EPYC</i>	6.640871832	2.24E-110	<i>MMP12</i>	2.138584128	9.68E-13
<i>MMP1</i>	6.636248184	8.56E-109	<i>PCDPI</i>	2.137760335	6.64E-16
<i>CGA</i>	6.603675632	2.19E-37	<i>KCNF1</i>	2.136177434	3.46E-40
<i>MMP13</i>	6.595637268	3.03E-109	<i>NPTX2</i>	2.136087484	6.54E-23

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>SNORA10</i>	6.499491595	6.73E-06	<i>HUS1B</i>	2.135317164	0.032656327
<i>MUC2</i>	6.4810581	9.62E-25	<i>POTED</i>	2.135177461	4.90E-06
<i>CPLX2</i>	6.444719141	7.00E-16	<i>CDKN2BAS</i>	2.133636306	2.33E-37
<i>MMP11</i>	6.414469141	0	<i>APOBEC3A</i>	2.133189367	1.08E-22
<i>CSAG1</i>	6.392976829	1.11E-11	<i>FCRL4</i>	2.130601152	5.59E-23
<i>RTBDN</i>	6.368839185	2.12E-58	<i>SLC12A1</i>	2.129476489	1.14E-06
<i>MAGEA3</i>	6.347606174	1.45E-13	<i>C2CD4A</i>	2.129377621	3.50E-13
<i>SNORA20</i>	6.341399396	1.10E-05	<i>PAFAH1B3</i>	2.128304843	8.69E-79
<i>SNORA76</i>	6.312017155	3.14E-08	<i>ANKRD34B</i>	2.127821614	0.001231933
<i>SERPINB4</i>	6.266050023	0.001879671	<i>CIT</i>	2.125999827	2.38E-77
<i>ABCC13</i>	6.260790941	3.78E-43	<i>SERPINA6</i>	2.12102822	7.86E-05
<i>SNORA53</i>	6.251778023	1.63E-15	<i>SLC17A8</i>	2.119379292	0.006240785
<i>SNORA34</i>	6.19590346	0.0001695	<i>CYP2B6</i>	2.119297088	5.40E-17
<i>SLC30A8</i>	6.166566416	5.03E-42	<i>C7orf33</i>	2.112557322	0.038991019
<i>HIST1H4B</i>	6.157506017	9.46E-05	<i>LY6H</i>	2.112264983	4.45E-20
<i>PCSK1</i>	6.144416186	2.43E-19	<i>FLJ45983</i>	2.11177196	2.72E-22
<i>CST5</i>	6.126952757	9.93E-24	<i>ZIC1</i>	2.111439761	9.03E-11
<i>HMP19</i>	6.124680833	7.71E-19	<i>CFC1B</i>	2.107887311	0.036315331
<i>CBLN2</i>	6.042640592	2.56E-51	<i>PYCR1</i>	2.106653348	1.27E-62
<i>GABRQ</i>	6.033137	4.80E-21	<i>TRIM59</i>	2.106377046	5.78E-93
<i>LRTM2</i>	6.014236276	1.70E-44	<i>HIST1H2BN</i>	2.104053158	3.54E-31
<i>HIST1H1B</i>	5.954598444	1.44E-13	<i>FANCA</i>	2.098920658	7.29E-42
<i>SNORA31</i>	5.926334913	0.042924517	<i>DNAJC5B</i>	2.097812766	3.87E-08
<i>CRISP1</i>	5.890107131	1.46E-05	<i>HOXB5</i>	2.096799938	2.98E-18
<i>HIST1H4C</i>	5.888539494	5.26E-07	<i>KIAA1524</i>	2.094229678	6.58E-68
<i>RAD21L1</i>	5.884102008	8.58E-10	<i>CHST6</i>	2.093954799	4.87E-32
<i>HIST1H4D</i>	5.855268851	3.91E-22	<i>CENPK</i>	2.09319905	2.30E-50
<i>SNORA71B</i>	5.816348083	1.11E-05	<i>LOC284749</i>	2.093052782	2.34E-10
<i>SPDYC</i>	5.814908491	9.58E-27	<i>PRR15</i>	2.090017815	1.65E-30
<i>CYP2F1</i>	5.814575439	3.45E-07	<i>FBXO43</i>	2.089558892	4.06E-55
<i>CHRNA9</i>	5.744974706	3.06E-24	<i>CCDC108</i>	2.086672071	2.30E-13
<i>HIST2H2AB</i>	5.723326954	9.58E-08	<i>GDF15</i>	2.086228255	2.84E-23
<i>HIST1H4A</i>	5.718145099	7.05E-07	<i>CYP4ZI</i>	2.084897397	3.04E-09
<i>HIST2H3C</i>	5.71503151	1.51E-42	<i>CALML5</i>	2.08315604	1.88E-09
<i>NCRNA00052</i>	5.709082616	5.20E-39	<i>EPGN</i>	2.082432213	2.04E-07
<i>HIST1H2BI</i>	5.69745773	9.57E-06	<i>KMO</i>	2.082163749	2.38E-22
<i>HIST1H2AJ</i>	5.670455637	8.07E-24	<i>IFITM5</i>	2.081083838	0.028392542
<i>CALCA</i>	5.647000911	0.001094708	<i>NPNT</i>	2.081043176	6.56E-47
<i>SNORA12</i>	5.622380206	1.22E-05	<i>C17orf102</i>	2.080810298	1.70E-05
<i>SLC24A2</i>	5.614015634	1.03E-93	<i>IL12B</i>	2.080145918	5.27E-15
<i>DSCR8</i>	5.602253652	6.78E-11	<i>COL5A1</i>	2.076647233	3.06E-42
<i>MAGEA2</i>	5.598193164	1.13E-06	<i>TACR3</i>	2.075233264	2.42E-06
<i>CA9</i>	5.588602124	1.94E-46	<i>DMRTA2</i>	2.075130534	8.67E-09
<i>MAGEA6</i>	5.576796588	1.70E-14	<i>IL9R</i>	2.073674942	4.54E-30
<i>TRY6</i>	5.567511028	0.003450284	<i>ACSL6</i>	2.073359536	1.21E-19

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>SNORA14B</i>	5.531309298	0.003889996	<i>F2</i>	2.071894104	2.21E-06
<i>GRM4</i>	5.519006958	1.67E-86	<i>PCSKIN</i>	2.071064778	2.98E-12
<i>LHX1</i>	5.513632434	5.13E-13	<i>CDT1</i>	2.070983914	9.40E-37
<i>MAEL</i>	5.503589547	4.54E-17	<i>C18orf56</i>	2.066869578	8.09E-38
<i>ORM1</i>	5.466230946	6.03E-31	<i>POCIA</i>	2.066546184	2.98E-87
<i>SSX1</i>	5.462934794	1.85E-05	<i>UTS2</i>	2.065818505	7.13E-06
<i>ZDHHC22</i>	5.413913214	1.18E-12	<i>EPN3</i>	2.064994533	1.39E-31
<i>MARCH4</i>	5.410469322	3.14E-43	<i>ADM2</i>	2.064019791	3.27E-37
<i>SI00A7A</i>	5.401347782	2.90E-29	<i>COL5A2</i>	2.060671695	1.05E-43
<i>TCHHL1</i>	5.388505617	1.96E-05	<i>TIGIT</i>	2.057827931	8.07E-27
<i>PPAPDC1A</i>	5.373883281	1.61E-114	<i>CTAG2</i>	2.056872383	0.01956277
<i>HIST1H3J</i>	5.361126241	2.57E-32	<i>RNFT2</i>	2.056862025	4.55E-67
<i>CCL11</i>	5.347791953	6.56E-109	<i>LAIR2</i>	2.054765142	3.82E-12
<i>SCARNA16</i>	5.317515187	3.60E-07	<i>KRT33A</i>	2.054351756	0.005772295
<i>CARTPT</i>	5.315646632	0.014513937	<i>TYMS</i>	2.048884766	1.63E-54
<i>FAM25A</i>	5.304900315	7.49E-20	<i>SPEF1</i>	2.04723855	1.07E-23
<i>SNORA3</i>	5.288918395	0.020034018	<i>C4orf50</i>	2.046585686	2.39E-09
<i>HIST1H2BB</i>	5.257474188	0.012235451	<i>LEF1</i>	2.045911179	1.31E-44
<i>HIST1H2AB</i>	5.25630338	0.005586553	<i>SPATA17</i>	2.041382667	4.23E-50
<i>CDC20B</i>	5.248777959	3.85E-52	<i>RGS4</i>	2.040373877	3.37E-36
<i>KCNJ3</i>	5.215642959	5.57E-48	<i>SLC22A24</i>	2.039137522	0.001895203
<i>ZFP42</i>	5.204964175	3.21E-09	<i>SLITRK6</i>	2.038972463	5.53E-16
<i>SI00G</i>	5.201680946	0.013647427	<i>CDH2</i>	2.036397996	1.13E-15
<i>IGFL3</i>	5.184115811	2.82E-31	<i>WFDC6</i>	2.036355228	4.24E-07
<i>RNU11</i>	5.175144211	0.008270352	<i>SLX2</i>	2.03448917	4.69E-22
<i>SI00P</i>	5.158920075	6.04E-66	<i>GINS2</i>	2.033353645	1.07E-50
<i>CSAG3</i>	5.156494649	1.15E-26	<i>HIST1H2BK</i>	2.033023305	3.75E-66
<i>NDST4</i>	5.155745154	7.72E-16	<i>HELLS</i>	2.032274782	8.41E-52
<i>TLX1</i>	5.149563709	2.03E-33	<i>FLJ40504</i>	2.032262577	1.06E-07
<i>SCARNA1</i>	5.131525286	0.016153382	<i>SLC7A13</i>	2.030582038	8.23E-14
<i>SYT13</i>	5.123890526	4.81E-66	<i>AIM2</i>	2.028277758	3.63E-22
<i>HIST1H3C</i>	5.098124483	1.08E-20	<i>RTKN2</i>	2.027571987	2.45E-56
<i>HAPLN1</i>	5.081970799	1.86E-77	<i>HES2</i>	2.025927744	1.30E-09
<i>WT1</i>	5.07776998	8.75E-51	<i>ETV7</i>	2.02475606	3.52E-34
<i>HOXB13</i>	5.056793914	2.37E-28	<i>TNIP3</i>	2.024724041	1.42E-17
<i>SLC1A6</i>	5.048888837	8.75E-13	<i>UNC5B</i>	2.024611791	3.91E-97
<i>SEZ6</i>	5.04641169	3.38E-13	<i>C1orf189</i>	2.023588113	0.00820718
<i>MSMB</i>	5.031976657	8.99E-28	<i>C1orf182</i>	2.023582942	1.81E-43
<i>PSAPL1</i>	5.020186907	4.98E-16	<i>ATAD2</i>	2.022476118	1.69E-64
<i>SNORA27</i>	5.009133174	0.030003033	<i>ECT2</i>	2.019663181	1.82E-90
<i>LIN28A</i>	5.005384465	1.96E-11	<i>POTEB</i>	2.016534426	0.012736349
<i>CLEC3A</i>	5.004419388	1.34E-22	<i>FBXL16</i>	2.016394097	8.84E-32
<i>SNORA22</i>	4.999309822	0.004315582	<i>C6orf118</i>	2.015490297	0.002886355

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>CELF3</i>	4.994361131	2.00E-17	<i>CLEC18C</i>	2.015174321	0.006240495
<i>PRSSI</i>	4.992403212	5.25E-08	<i>SPOCD1</i>	2.011798134	6.65E-24
<i>HORMAD1</i>	4.969705386	6.01E-18	<i>CAPS</i>	2.010114675	1.23E-30
<i>POTEC</i>	4.964491025	1.32E-10	<i>RACGAPI</i>	2.00868611	4.52E-94
<i>HIST1H2AH</i>	4.954064215	8.82E-06	<i>FANCI</i>	2.008438252	3.88E-90
<i>SNORA70</i>	4.942528772	0.000255492	<i>C9orf172</i>	2.007659255	8.05E-43
<i>ASCL1</i>	4.936651584	2.76E-32	<i>GSDMC</i>	2.006833293	1.42E-10
<i>C17orf93</i>	4.93397513	2.41E-24	<i>KIAA1257</i>	2.006572281	6.12E-34
<i>GABRA3</i>	4.931872991	5.73E-19	<i>HIST1H2AK</i>	2.006201603	2.03E-16
<i>GNG13</i>	4.91678346	4.76E-33	<i>ARHGAP11B</i>	2.003793234	3.30E-38
<i>LOC283867</i>	4.916311002	2.16E-98	<i>RAETIK</i>	2.002484035	3.35E-18
<i>SI00A8</i>	4.91468485	1.92E-18	<i>GRB14</i>	2.001746271	1.51E-09
<i>HIST1H2BO</i>	4.901959343	1.22E-60	<i>GPHA2</i>	2.001743538	0.000320703
<i>HIST1H3I</i>	4.890290805	0.000359839	<i>EDDM3B</i>	2.001601098	0.001805038
<i>XKR7</i>	4.883174411	3.91E-08	<i>SAG</i>	2.001099492	1.62E-06
<i>MAGEA4</i>	4.872728262	3.94E-07	<i>C9orf125</i>	-2.000287154	3.66E-72
<i>SBSN</i>	4.869685679	6.57E-07	<i>CK11</i>	-2.001432887	1.46E-37
<i>PRAME</i>	4.868878974	4.57E-37	<i>HORMAD2</i>	-2.002186206	1.68E-06
<i>TRH</i>	4.856105754	0.001078864	<i>APCDD1L</i>	-2.002275783	7.73E-21
<i>SERPINB3</i>	4.855534782	0.04213432	<i>C9orf11</i>	-2.002581286	4.32E-13
<i>LOC152225</i>	4.855283589	2.51E-27	<i>WFIKKN2</i>	-2.005216413	1.16E-21
<i>PAGE2B</i>	4.814125149	2.31E-05	<i>MCAM</i>	-2.005219916	2.59E-49
<i>WIT1</i>	4.808531983	9.07E-37	<i>C8orf79</i>	-2.005716649	7.21E-37
<i>HIST1H4E</i>	4.804862938	8.12E-27	<i>PTCHD3</i>	-2.007779617	3.52E-11
<i>CSMD3</i>	4.777078941	1.64E-08	<i>ABI3BP</i>	-2.010499988	1.49E-29
<i>GATA4</i>	4.772085804	1.35E-21	<i>WASF3</i>	-2.01073924	3.06E-58
<i>PSG9</i>	4.758314927	3.10E-11	<i>GNG11</i>	-2.011244517	4.71E-69
<i>NELL1</i>	4.757331914	3.39E-13	<i>MIA2</i>	-2.012488117	2.16E-09
<i>HIST1H2AL</i>	4.756306162	7.85E-22	<i>BINI</i>	-2.013833585	1.90E-38
<i>MAGEA10</i>	4.751940335	1.14E-05	<i>SLCO1C1</i>	-2.014102368	1.32E-24
<i>SNORA61</i>	4.750532284	0.002009575	<i>IGFN1</i>	-2.014666217	6.52E-10
<i>AWAT1</i>	4.749845831	2.56E-07	<i>HYMAI</i>	-2.018985235	3.99E-28
<i>HIST1H2BM</i>	4.747451121	3.47E-09	<i>CETN4P</i>	-2.019361514	6.16E-24
<i>MAGEC2</i>	4.743525485	9.72E-06	<i>LOC134466</i>	-2.021351278	1.54E-57
<i>CEACAM5</i>	4.736957728	3.50E-54	<i>C16orf82</i>	-2.021431145	1.39E-07
<i>FABP6</i>	4.720049004	2.35E-24	<i>GLDN</i>	-2.022328208	4.78E-24
<i>FADS6</i>	4.714093046	1.35E-11	<i>OR5P2</i>	-2.023594894	1.41E-06
<i>MYO3B</i>	4.709732337	1.06E-20	<i>LIMS2</i>	-2.024008619	4.53E-90
<i>CNGA2</i>	4.709241773	1.69E-16	<i>HBZ</i>	-2.024315538	1.11E-09
<i>PLAC1</i>	4.696890955	4.10E-79	<i>CIQL2</i>	-2.027057549	1.70E-10
<i>ORM2</i>	4.696745773	3.33E-18	<i>ITGB1BP2</i>	-2.027947009	5.18E-06
<i>SNORA71A</i>	4.692901004	0.007557481	<i>FOLR2</i>	-2.03065399	1.27E-28
<i>LGALS9B</i>	4.69178654	6.38E-27	<i>RPL23AP32</i>	-2.031184834	9.90E-20
<i>GABRA5</i>	4.68072058	5.00E-15	<i>MRGPRF</i>	-2.031696167	4.56E-58
<i>FAM123C</i>	4.661969564	0.003751366	<i>FAM162B</i>	-2.03420358	3.55E-45

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>HIST1H1E</i>	4.6592181	3.00E-12	<i>SLC8A3</i>	-2.041183806	8.99E-07
<i>TLX3</i>	4.656646732	3.51E-06	<i>BEND2</i>	-2.041238178	1.26E-05
<i>KCNH6</i>	4.639148936	1.21E-07	<i>MASIL</i>	-2.042496855	1.43E-15
<i>KRT34</i>	4.612952589	0.000370137	<i>SAA4</i>	-2.042977853	1.51E-26
<i>COMP</i>	4.605588764	1.29E-94	<i>LOC158376</i>	-2.044321097	3.69E-39
<i>CRISP3</i>	4.593884139	9.36E-14	<i>OR5P3</i>	-2.045778294	8.32E-07
<i>PYDC1</i>	4.57585386	1.36E-32	<i>RNASE13</i>	-2.047063653	1.91E-26
<i>INSM1</i>	4.563986872	1.26E-17	<i>ODZ1</i>	-2.047755244	7.38E-48
<i>GJB2</i>	4.554321831	3.59E-135	<i>FGF1</i>	-2.047854788	1.09E-81
<i>ATP1A3</i>	4.552868697	1.71E-61	<i>PTGIS</i>	-2.0503856	3.25E-39
<i>IVL</i>	4.535791971	3.79E-12	<i>KRT5</i>	-2.050466974	8.03E-14
<i>C14orf53</i>	4.529397586	3.02E-11	<i>PALM2-AKAP2</i>	-2.050738664	1.31E-71
<i>CST2</i>	4.527472158	5.17E-52	<i>ANGPTL4</i>	-2.051594043	1.14E-27
<i>PLA2G2F</i>	4.523018008	4.51E-06	<i>GYPC</i>	-2.051984274	3.63E-69
<i>WDR74</i>	4.519985614	3.14E-10	<i>MMP28</i>	-2.052416594	1.59E-41
<i>PAGE5</i>	4.51050598	0.000319035	<i>C2CD4B</i>	-2.053344235	2.25E-18
<i>CHRNA4</i>	4.502503222	0.017909828	<i>EBF2</i>	-2.053546207	1.00E-30
<i>KRT79</i>	4.489646333	0.000650571	<i>TTL10</i>	-2.053687282	6.12E-32
<i>CD177</i>	4.464076079	4.63E-36	<i>AKRIC4</i>	-2.057945783	1.17E-05
<i>SYT5</i>	4.463759597	7.60E-32	<i>TYRO3</i>	-2.059119265	2.70E-39
<i>PVALB</i>	4.462902998	1.87E-37	<i>DIO3OS</i>	-2.061050401	2.94E-28
<i>SNORA38B</i>	4.454348332	0.022524362	<i>NMB</i>	-2.0620036	6.45E-38
<i>SLC6A4</i>	4.443939908	4.47E-42	<i>FLJ35024</i>	-2.063349578	1.15E-22
<i>HIST1H1A</i>	4.431047291	0.0269788	<i>NR3C2</i>	-2.063727856	1.02E-65
<i>LOC645323</i>	4.407078243	3.57E-20	<i>LOC100133545</i>	-2.06542593	9.38E-28
<i>HIST1H2AD</i>	4.404522196	7.89E-31	<i>PER1</i>	-2.068927147	1.33E-58
<i>SCN1A</i>	4.40237243	9.26E-10	<i>TRIM50</i>	-2.069717886	2.50E-20
<i>HIST1H2AM</i>	4.39566115	1.55E-68	<i>MRC1</i>	-2.07395028	4.00E-28
<i>NCRNA00200</i>	4.39073152	0.04223015	<i>CADM3</i>	-2.074409074	2.96E-19
<i>SEZ6L</i>	4.382761583	6.47E-10	<i>ROBO3</i>	-2.077675395	3.18E-66
<i>CDK5R2</i>	4.376745022	5.24E-09	<i>ZFP36</i>	-2.078778422	4.29E-42
<i>HIST1H3G</i>	4.37451054	8.85E-37	<i>STX11</i>	-2.080452833	1.80E-41
<i>PCDH10</i>	4.369210132	1.09E-09	<i>S100B</i>	-2.080678687	1.20E-36
<i>OR2B6</i>	4.358381627	2.43E-46	<i>FAM13C</i>	-2.081268384	5.43E-54
<i>CRYBA2</i>	4.355390184	2.14E-10	<i>OR5K2</i>	-2.081468898	5.16E-26
<i>TMEM215</i>	4.346067686	1.87E-42	<i>IL13</i>	-2.082827679	1.16E-10
<i>HCN2</i>	4.335015576	1.45E-77	<i>NR4A3</i>	-2.089061152	2.05E-22
<i>CSAG2</i>	4.332835655	3.39E-05	<i>MRAS</i>	-2.090276593	5.18E-56
<i>IL19</i>	4.324628342	1.40E-20	<i>C21orf34</i>	-2.090403311	6.25E-58
<i>HIST1H2BL</i>	4.323861872	1.80E-21	<i>ART4</i>	-2.09043523	7.62E-21
<i>PRDM13</i>	4.318849097	6.34E-06	<i>SLC47A2</i>	-2.090636713	3.20E-32
<i>HIST1H1D</i>	4.318503927	1.95E-19	<i>STXBP6</i>	-2.09621162	4.78E-30
<i>CEACAM6</i>	4.318149927	1.04E-45	<i>C7orf58</i>	-2.09724855	4.15E-27

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>GPR115</i>	4.314362482	2.34E-40	<i>PPP1R12B</i>	-2.097838263	1.84E-120
<i>NEK2</i>	4.31318893	6.37E-131	<i>LTBP4</i>	-2.098533343	1.74E-78
<i>NKX2-2</i>	4.302714159	7.04E-13	<i>ANKRD29</i>	-2.09882981	1.70E-52
<i>DQXI</i>	4.299955318	1.74E-51	<i>EGR2</i>	-2.099739347	5.07E-42
<i>METTL1B</i>	4.294727499	4.09E-37	<i>FGF17</i>	-2.102069316	1.43E-41
<i>BMPR1B</i>	4.289091991	1.15E-52	<i>PID1</i>	-2.104581455	6.68E-42
<i>MYT1</i>	4.286209728	1.79E-59	<i>ANKRD1</i>	-2.104880482	4.35E-07
<i>SYT4</i>	4.274909079	0.00525272	<i>GPRASP1</i>	-2.105001397	1.79E-96
<i>WBSCR28</i>	4.269977493	7.77E-52	<i>ID4</i>	-2.108025411	4.42E-35
<i>HIST1H3H</i>	4.263042141	6.25E-79	<i>NR4A1</i>	-2.111222353	1.84E-27
<i>GDPD2</i>	4.259537407	4.00E-14	<i>ADAMTS1</i>	-2.111781701	2.54E-50
<i>TLX1NB</i>	4.255067646	8.77E-17	<i>SNCG</i>	-2.112551426	4.31E-26
<i>GAL3ST2</i>	4.244075018	1.74E-38	<i>IL17D</i>	-2.113627896	8.12E-25
<i>SVOP</i>	4.242904066	0.010045513	<i>ALC</i>	-2.115705992	3.71E-41
<i>KIAA1199</i>	4.241722917	1.44E-109	<i>SOX17</i>	-2.116176817	8.22E-54
<i>HIST1H2BF</i>	4.241001638	3.43E-32	<i>NRN1</i>	-2.116727192	7.58E-55
<i>LOC100133469</i>	4.235478707	2.60E-05	<i>CFL2</i>	-2.117763888	1.69E-62
<i>SLC18A1</i>	4.234731856	5.92E-08	<i>GABRE</i>	-2.121440764	7.52E-18
<i>EIF4E1B</i>	4.209171118	1.90E-14	<i>TCEAL7</i>	-2.123768937	3.77E-72
<i>SPINK4</i>	4.202237829	2.48E-13	<i>DKFZp779M0652</i>	-2.124047261	2.04E-23
<i>XAGE2</i>	4.19452168	0.012770796	<i>ADHFE1</i>	-2.126804796	4.75E-46
<i>SBK2</i>	4.183679095	3.41E-07	<i>GPR149</i>	-2.127671518	6.02E-09
<i>SLC5A8</i>	4.172260283	1.92E-14	<i>C10orf10</i>	-2.129674686	1.36E-46
<i>KRT75</i>	4.16332098	1.74E-16	<i>SLC27A6</i>	-2.130522448	6.21E-19
<i>KIF1A</i>	4.142409619	4.74E-34	<i>HSD3B2</i>	-2.133714696	4.28E-17
<i>SPRR2D</i>	4.140742034	0.001063063	<i>MYLK</i>	-2.135963953	8.90E-86
<i>CXorf61</i>	4.137071819	2.47E-06	<i>C7orf51</i>	-2.136909452	3.02E-42
<i>TBX10</i>	4.136498676	3.52E-07	<i>MYH3</i>	-2.138519392	2.16E-60
<i>LRRC15</i>	4.135206967	5.91E-120	<i>PROX1</i>	-2.140684116	9.86E-26
<i>UNC13A</i>	4.134626802	1.45E-30	<i>ARC</i>	-2.14232551	9.58E-25
<i>CNTNAP2</i>	4.131473768	2.05E-49	<i>CCDC85A</i>	-2.14479039	6.80E-47
<i>KIF4A</i>	4.129977765	8.46E-123	<i>OSR1</i>	-2.145603299	5.75E-24
<i>MSLN</i>	4.120680322	2.47E-22	<i>KBTBD12</i>	-2.14660257	2.01E-10
<i>AIMIL</i>	4.111013324	3.95E-73	<i>TMEM220</i>	-2.147249109	9.39E-90
<i>KRT12</i>	4.111012614	0.001075183	<i>LOC100128554</i>	-2.149047272	2.52E-08
<i>VGF</i>	4.091360333	5.59E-44	<i>TPM2</i>	-2.150219459	2.10E-20
<i>CXorf30</i>	4.089544979	3.28E-25	<i>DDR2</i>	-2.155897121	2.97E-38
<i>C20orf85</i>	4.084048193	8.06E-09	<i>ASAM</i>	-2.156246574	3.45E-50
<i>PGLYRP4</i>	4.08210994	2.71E-07	<i>PM20D1</i>	-2.156622057	9.66E-25
<i>SCT</i>	4.079306296	9.71E-47	<i>MGLL</i>	-2.16103469	3.75E-46
<i>LOC284379</i>	4.073335477	4.01E-12	<i>ECM2</i>	-2.16193178	1.85E-42
<i>CYP2A6</i>	4.071073454	0.001933405	<i>TMEM88</i>	-2.162517486	1.63E-58
<i>SI00A7</i>	4.068724654	1.26E-45	<i>RBP7</i>	-2.16487686	1.38E-46
<i>INA</i>	4.048670364	1.43E-10	<i>HCRTR1</i>	-2.167047704	1.56E-24
<i>CXCL11</i>	4.042528506	7.76E-71	<i>DCX</i>	-2.168258696	1.75E-14

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>NKAIN1</i>	4.041850682	1.87E-50	<i>FAM149A</i>	-2.168429997	9.53E-44
<i>HIST1H1T</i>	4.019456612	3.11E-26	<i>LALBA</i>	-2.170852775	7.87E-08
<i>HHIPL2</i>	4.006993323	1.34E-27	<i>ATF3</i>	-2.171022126	3.85E-41
<i>A2ML1</i>	3.999699747	7.41E-29	<i>LOC100302650</i>	-2.171451882	9.53E-35
<i>GSTA3</i>	3.999376519	0.000714352	<i>CDKN1C</i>	-2.17325104	2.66E-61
<i>FMO9P</i>	3.997597945	2.08E-20	<i>ALX4</i>	-2.17522427	1.39E-16
<i>LOC146336</i>	3.997169163	1.90E-10	<i>TMOD1</i>	-2.17601589	1.14E-53
<i>EPHA8</i>	3.991023931	8.19E-21	<i>USHBP1</i>	-2.176029669	1.74E-72
<i>LHX2</i>	3.984786826	8.75E-47	<i>SMR3B</i>	-2.178174645	1.07E-12
<i>DGAT2L6</i>	3.98064109	0.000249074	<i>CEACAM8</i>	-2.182076121	4.05E-09
<i>FOXJ1</i>	3.96560422	2.18E-45	<i>LRRTM2</i>	-2.182138968	1.74E-51
<i>CCL7</i>	3.963318703	2.71E-21	<i>FLJ34503</i>	-2.184392622	5.01E-16
<i>CAPSL</i>	3.960377279	1.34E-37	<i>GPR97</i>	-2.185397311	1.45E-27
<i>GATA5</i>	3.960095062	9.70E-24	<i>EMX2OS</i>	-2.185745619	4.89E-40
<i>FOXG1</i>	3.957514674	4.04E-05	<i>CCL28</i>	-2.18845182	6.65E-24
<i>KRT37</i>	3.953204798	8.23E-30	<i>KCTD4</i>	-2.189573615	9.75E-18
<i>WISP1</i>	3.950401916	7.35E-148	<i>TCEAL2</i>	-2.190266745	4.06E-29
<i>PRSS33</i>	3.942766226	8.37E-09	<i>CREB5</i>	-2.194533999	5.76E-69
<i>UBE2C</i>	3.938912958	2.40E-108	<i>ITM2A</i>	-2.195160766	3.48E-65
<i>GBX2</i>	3.93856526	3.04E-29	<i>PCDH15</i>	-2.197977738	7.34E-12
<i>GAD1</i>	3.930984559	2.33E-31	<i>RGN</i>	-2.198430366	6.17E-36
<i>NMU</i>	3.926071389	8.05E-30	<i>FAM70A</i>	-2.200157838	1.33E-64
<i>NUF2</i>	3.921288895	4.11E-119	<i>FAM26D</i>	-2.202036404	1.63E-10
<i>C1orf230</i>	3.914383784	3.08E-29	<i>CTNNA3</i>	-2.202990024	1.51E-14
<i>EMX1</i>	3.911536183	2.49E-36	<i>APCDD1</i>	-2.203636911	3.57E-77
<i>LOC84740</i>	3.896597466	1.36E-35	<i>PRCD</i>	-2.206517731	4.07E-82
<i>PGLYRP3</i>	3.892182579	0.000166726	<i>GPR133</i>	-2.206837527	1.44E-28
<i>T2</i>	3.889028343	5.50E-62	<i>CORO2B</i>	-2.209576623	4.04E-67
<i>CLDN6</i>	3.887839494	1.12E-15	<i>CASP12</i>	-2.211163377	1.62E-41
<i>KREMEN2</i>	3.887006301	9.07E-60	<i>TMTC1</i>	-2.212652828	6.86E-52
<i>TMEM145</i>	3.88157576	5.54E-51	<i>GNAI1</i>	-2.216412889	2.19E-53
<i>CHRNA6</i>	3.877905626	1.57E-65	<i>KCNH8</i>	-2.216821879	5.37E-20
<i>CARD17</i>	3.87607346	0.000131857	<i>CLDN11</i>	-2.224755524	3.80E-40
<i>GPR139</i>	3.856355616	5.01E-15	<i>KCNJ16</i>	-2.22626742	4.34E-57
<i>IQGAP3</i>	3.854092873	1.51E-106	<i>PLCXD3</i>	-2.227359899	8.49E-27
<i>ADAMTS20</i>	3.853601754	1.48E-19	<i>THRSP</i>	-2.229732608	1.29E-17
<i>S100A9</i>	3.832619157	6.39E-18	<i>SIK2</i>	-2.233040521	1.02E-71
<i>VCX</i>	3.828922046	0.005125229	<i>HAP1</i>	-2.23405379	7.52E-25
<i>HIST1H2BH</i>	3.820427874	5.27E-66	<i>SCN3B</i>	-2.236895493	1.79E-46
<i>PKMYT1</i>	3.816878959	2.24E-88	<i>ARHGAP36</i>	-2.238537366	1.63E-11
<i>RDH12</i>	3.811479292	1.47E-13	<i>SCN9A</i>	-2.240549974	2.02E-43
<i>CCDC60</i>	3.80632725	4.81E-08	<i>LOC257358</i>	-2.244249823	3.13E-53
<i>TMEM151A</i>	3.789871136	1.21E-34	<i>ANK2</i>	-2.248183158	1.02E-51

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>AMTN</i>	3.780969195	4.95E-07	<i>GRRP1</i>	-2.249746574	8.33E-57
<i>MS4A15</i>	3.777407357	6.36E-19	<i>MPZ</i>	-2.25188494	3.09E-30
<i>CAMP</i>	3.774722516	9.72E-36	<i>ANXA1</i>	-2.253285999	2.21E-83
<i>NAT1</i>	3.772224402	4.71E-58	<i>EFHA2</i>	-2.255872131	2.98E-76
<i>GPR26</i>	3.76774216	4.42E-14	<i>WDR69</i>	-2.256170946	2.50E-08
<i>C19orf30</i>	3.767152381	0.002503674	<i>TGFBR3</i>	-2.256329581	1.59E-50
<i>FGF5</i>	3.765515323	8.15E-28	<i>DENND2A</i>	-2.256845083	7.59E-64
<i>CLPS</i>	3.759212835	3.50E-08	<i>NCRNA00086</i>	-2.259180158	2.68E-47
<i>RNU6ATAC</i>	3.753376861	0.014479653	<i>SLC29A4</i>	-2.2593841	4.21E-26
<i>INHBA</i>	3.740653818	1.57E-155	<i>GNAL</i>	-2.259475192	6.03E-59
<i>BRSK2</i>	3.735969776	4.67E-43	<i>FGF8</i>	-2.260578287	1.06E-11
<i>HTR1E</i>	3.732561368	4.51E-09	<i>CNKSR2</i>	-2.26233959	5.26E-28
<i>VSTM2A</i>	3.731724735	9.35E-28	<i>MFAP4</i>	-2.264493043	2.75E-40
<i>MELK</i>	3.710015135	2.04E-97	<i>FFAR3</i>	-2.268530868	1.62E-24
<i>LOC100132354</i>	3.709223895	3.23E-23	<i>FHL5</i>	-2.26926637	2.20E-45
<i>KIF14</i>	3.707167795	8.48E-92	<i>DST.1</i>	-2.269328106	2.92E-99
<i>CDH18</i>	3.706289414	1.06E-06	<i>SLC22A3</i>	-2.270271433	4.40E-28
<i>ZNF716</i>	3.705206907	1.68E-06	<i>LRRN3</i>	-2.270511574	1.24E-36
<i>DIO1</i>	3.694681539	3.31E-37	<i>FAM151A</i>	-2.271527376	8.09E-11
<i>MYBL2</i>	3.693572778	1.82E-78	<i>ASTN1</i>	-2.273618574	1.06E-25
<i>CDC25C</i>	3.692731603	7.92E-95	<i>PKDCC</i>	-2.277694403	3.07E-39
<i>CYP2A13</i>	3.686477713	4.82E-07	<i>GRIN2B</i>	-2.27913913	3.31E-19
<i>PPP2R2C</i>	3.682092401	7.63E-66	<i>GFRA2</i>	-2.279910914	2.40E-28
<i>HIST2H2AC</i>	3.677943606	9.26E-23	<i>CYP26B1</i>	-2.281330265	1.49E-40
<i>BCAR4</i>	3.674369229	9.43E-09	<i>OGN</i>	-2.28154984	1.37E-32
<i>NKX2-3</i>	3.650897713	2.83E-10	<i>TSHZ2</i>	-2.283453416	3.34E-68
<i>NELL2</i>	3.645943181	1.88E-53	<i>KL</i>	-2.283898767	1.40E-69
<i>EXO1</i>	3.644055439	2.16E-99	<i>C10orf90</i>	-2.28394955	7.76E-30
<i>COL9A1</i>	3.643819064	1.64E-05	<i>FAT2</i>	-2.286216039	4.22E-26
<i>ASPM</i>	3.6422847	1.50E-92	<i>CSRNP3</i>	-2.292831327	2.78E-35
<i>CXCL10</i>	3.63981017	1.54E-65	<i>SLITRK2</i>	-2.295480937	1.68E-30
<i>CTAG1B</i>	3.636274481	0.020608967	<i>CLEC4M</i>	-2.296189717	3.29E-26
<i>RRM2</i>	3.635533704	3.57E-93	<i>ALPK3</i>	-2.296987342	1.44E-24
<i>SNORA59B</i>	3.631940929	0.016830391	<i>FAM13A</i>	-2.297361574	3.09E-83
<i>HIST1H4K</i>	3.630683053	1.32E-09	<i>DEFA1B</i>	-2.298878407	5.54E-07
<i>CIB3</i>	3.616996167	3.43E-39	<i>DLGAP2</i>	-2.299706142	3.36E-52
<i>CILP2</i>	3.61509973	9.84E-114	<i>CHST9</i>	-2.300192473	2.09E-19
<i>TFR2</i>	3.607695858	3.71E-77	<i>PRKAR2B</i>	-2.301308936	9.39E-36
<i>LPPR5</i>	3.600468697	6.41E-31	<i>PDLIM3</i>	-2.303121975	7.17E-33
<i>SNORA64</i>	3.595286148	0.000881426	<i>FAM189A2</i>	-2.30427184	1.83E-40
<i>FAM83D</i>	3.594011081	3.12E-100	<i>PTGFR</i>	-2.305324963	1.15E-36
<i>TNR</i>	3.586483914	5.24E-18	<i>SOD3</i>	-2.305404395	2.30E-41
<i>UNC93A</i>	3.583474083	2.69E-09	<i>BAI3</i>	-2.307191864	1.93E-58
<i>GABBR2</i>	3.574203273	1.96E-10	<i>ORIE1</i>	-2.30981124	3.97E-11
<i>SLC4A10</i>	3.57051946	0.000101786	<i>LOC100128164</i>	-2.311034922	1.79E-33

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>BUB1</i>	3.569911501	1.03E-108	<i>TCF21</i>	-2.314226679	6.17E-31
<i>ABP1</i>	3.56980205	3.16E-22	<i>NGFR</i>	-2.315099142	1.01E-38
<i>NEIL3</i>	3.569181915	5.93E-88	<i>CNTNAP3</i>	-2.316049934	1.80E-36
<i>HOXC12</i>	3.566745814	1.96E-16	<i>NCRNA00092</i>	-2.317417935	1.77E-22
<i>TCL1B</i>	3.563411721	2.02E-12	<i>NTRK2</i>	-2.319781296	1.99E-47
<i>TBX20</i>	3.563348946	1.49E-06	<i>CLIC5</i>	-2.322082624	1.03E-41
<i>CYP2B7P1</i>	3.561281569	5.66E-30	<i>SLC25A27</i>	-2.322348188	1.43E-52
<i>PITX1</i>	3.559498865	7.48E-54	<i>NR1H4</i>	-2.323573833	0.000206832
<i>KCNK12</i>	3.553221613	2.73E-13	<i>PLN</i>	-2.32481257	4.40E-13
<i>CAPN9</i>	3.549174649	1.00E-41	<i>EGR3</i>	-2.328022889	1.29E-35
<i>C6orf218</i>	3.546910079	6.84E-08	<i>TSPAN7</i>	-2.329797272	1.21E-58
<i>HIST1H3D</i>	3.545706587	1.90E-47	<i>SPINK1</i>	-2.331167335	0.00116386
<i>TROAP</i>	3.545570107	1.37E-96	<i>LOC145820</i>	-2.33207215	1.54E-54
<i>ANLN</i>	3.535051801	2.40E-109	<i>AKAP12</i>	-2.333963341	1.04E-51
<i>IL20</i>	3.534378514	1.17E-30	<i>MYOCD</i>	-2.334450646	5.15E-38
<i>GABRD</i>	3.531684329	1.61E-100	<i>FRMPD4</i>	-2.334649306	1.49E-29
<i>TPX2</i>	3.525555573	1.59E-129	<i>FAM150B</i>	-2.335406248	3.50E-31
<i>STXBP5L</i>	3.525065932	6.24E-11	<i>ABCB11</i>	-2.335482554	7.29E-16
<i>AKAP14</i>	3.519364343	1.76E-09	<i>NRG1</i>	-2.337133574	2.43E-28
<i>HIST1H3A</i>	3.519125313	0.001117434	<i>CYMP</i>	-2.337241931	3.59E-07
<i>EPO</i>	3.517990715	2.55E-32	<i>MEG3</i>	-2.33728048	2.88E-64
<i>SGOL1</i>	3.516422892	1.70E-92	<i>AKR1C3</i>	-2.337720218	3.34E-50
<i>TOP2A</i>	3.507330909	7.77E-82	<i>LIFR</i>	-2.338145618	1.31E-74
<i>HJURP</i>	3.504427022	3.84E-101	<i>GPR182</i>	-2.338613104	6.84E-32
<i>NXPH1</i>	3.504258563	1.80E-17	<i>C6orf223</i>	-2.339512749	1.20E-05
<i>DEPDC1</i>	3.501183416	7.28E-92	<i>RNASE7</i>	-2.341103501	2.00E-21
<i>HIST2H3D</i>	3.498149963	1.46E-20	<i>TP63</i>	-2.344604668	5.30E-28
<i>PAPL</i>	3.495389146	3.93E-06	<i>PDZD2</i>	-2.349072859	9.94E-51
<i>SCRT1</i>	3.494838853	9.06E-06	<i>SCN2A</i>	-2.349521631	1.05E-28
<i>HAR1B</i>	3.493497139	1.30E-15	<i>PHYHIP</i>	-2.350084058	2.22E-59
<i>GCM1</i>	3.488099424	6.58E-10	<i>AGAP11</i>	-2.352220332	4.71E-53
<i>SPC24</i>	3.485646534	3.25E-69	<i>TACR1</i>	-2.352269867	3.22E-38
<i>CEP55</i>	3.482532673	1.14E-109	<i>STAC2</i>	-2.352568039	5.96E-15
<i>OTOR</i>	3.481892563	2.63E-19	<i>HFM1</i>	-2.353290486	2.67E-34
<i>CKAP2L</i>	3.475931942	2.96E-100	<i>ABCA6</i>	-2.354322488	2.17E-48
<i>APOBEC4</i>	3.475534734	2.37E-13	<i>INMT</i>	-2.356772909	2.33E-49
<i>PBK</i>	3.471539155	1.28E-87	<i>KCTD8</i>	-2.357307927	5.66E-22
<i>ROS1</i>	3.470839459	0.000974485	<i>CRB2</i>	-2.358977179	7.64E-39
<i>POU4F1</i>	3.465380216	6.60E-10	<i>ENPP2</i>	-2.360923923	6.08E-50
<i>FOXM1</i>	3.461857734	8.51E-98	<i>HOXA6</i>	-2.364709331	1.94E-44
<i>ITPKA</i>	3.461530922	1.44E-46	<i>KLF4</i>	-2.365221783	2.14E-56
<i>CNIH2</i>	3.450631426	3.51E-84	<i>ITPRIPL1</i>	-2.366374422	2.22E-66
<i>DLGAP5</i>	3.448502366	2.33E-87	<i>SNTG2</i>	-2.368315128	2.66E-20

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>LIN28B</i>	3.448487605	0.000641906	<i>GAL3ST3</i>	-2.369257206	2.37E-16
<i>RUNDC3A</i>	3.448270843	0.001840116	<i>EPHB1</i>	-2.369513524	1.64E-40
<i>IGFL2</i>	3.447107186	5.83E-34	<i>SRPX</i>	-2.369665114	2.36E-72
<i>KIF20A</i>	3.445886281	2.57E-88	<i>STK32A</i>	-2.369879683	8.59E-29
<i>KIF2C</i>	3.4442578	2.20E-100	<i>DARC</i>	-2.371852709	6.22E-33
<i>PLK1</i>	3.442119895	3.65E-106	<i>VWCE</i>	-2.373032838	1.54E-61
<i>RDH16</i>	3.439076703	3.38E-59	<i>D4S234E</i>	-2.37392257	3.60E-33
<i>DPYSL5</i>	3.435610281	2.01E-12	<i>FOS</i>	-2.37603775	9.77E-39
<i>SOHLH1</i>	3.429865406	9.88E-05	<i>TSKS</i>	-2.378376836	1.41E-25
<i>CLVS2</i>	3.429150403	0.047725177	<i>NCRNA00032</i>	-2.379112601	2.09E-19
<i>KLKPI</i>	3.428471422	8.58E-41	<i>CALB2</i>	-2.379171878	2.45E-23
<i>SERPINB7</i>	3.427063729	1.58E-16	<i>FGF2</i>	-2.381483253	4.57E-39
<i>CLEC5A</i>	3.425226132	7.37E-98	<i>C11orf87</i>	-2.382370584	4.02E-25
<i>GNGT1</i>	3.42279886	1.97E-09	<i>RNF150</i>	-2.384556151	2.44E-43
<i>HTR1D</i>	3.418577551	2.96E-65	<i>TMEM178</i>	-2.384698154	4.09E-48
<i>RBP2</i>	3.416670565	2.83E-10	<i>IL33</i>	-2.385011363	1.39E-39
<i>MMP9</i>	3.409773813	1.00E-25	<i>LPHN3</i>	-2.390200164	1.85E-40
<i>KIF18B</i>	3.409628169	4.09E-77	<i>C13orf33</i>	-2.391206489	2.02E-45
<i>UHRF1</i>	3.40493674	2.60E-92	<i>LCN10</i>	-2.395266018	4.87E-39
<i>ENTHD1</i>	3.398861926	2.02E-36	<i>MS4A6E</i>	-2.395365367	8.93E-09
<i>CLDN25</i>	3.395334764	3.86E-18	<i>HBM</i>	-2.396732754	0.000123307
<i>MMP10</i>	3.393052085	1.65E-53	<i>PROK2</i>	-2.397050306	1.37E-18
<i>KRT3</i>	3.380059343	8.70E-10	<i>TWIST2</i>	-2.397318765	5.62E-50
<i>C15orf54</i>	3.379404266	1.19E-24	<i>ESR2</i>	-2.397497947	4.52E-47
<i>UGT1A6</i>	3.375562982	0.009177081	<i>FZD4</i>	-2.399490203	1.48E-56
<i>CDHR4</i>	3.373020416	1.23E-09	<i>SPRY2</i>	-2.402398596	1.14E-122
<i>POU3F2</i>	3.370679938	2.16E-12	<i>SLC25A34</i>	-2.404762532	1.75E-46
<i>HSD17B6</i>	3.366821758	7.01E-138	<i>UTS2D</i>	-2.405857453	2.19E-36
<i>COL22A1</i>	3.365192585	2.14E-35	<i>PZP</i>	-2.408682949	1.02E-52
<i>UGT2A1</i>	3.362667181	0.00983813	<i>HTR4</i>	-2.412509907	2.31E-19
<i>NDC80</i>	3.36099272	2.37E-97	<i>LMX1A</i>	-2.417536594	2.39E-25
<i>KCNH1</i>	3.356942005	3.86E-56	<i>C1QTNF7</i>	-2.418317292	1.82E-34
<i>TUBA4B</i>	3.356620741	6.28E-14	<i>PGM5</i>	-2.420826659	4.56E-58
<i>SIX3</i>	3.355417332	8.45E-28	<i>GRIK1</i>	-2.420891148	2.38E-15
<i>CDC20</i>	3.35043291	2.22E-86	<i>RSPO3</i>	-2.421463259	2.87E-60
<i>C2orf54</i>	3.346217854	3.72E-30	<i>LOC201651</i>	-2.424451565	4.57E-37
<i>EPR1</i>	3.341139006	6.72E-68	<i>ASB2</i>	-2.424792931	1.48E-05
<i>FBN2</i>	3.338466383	2.38E-55	<i>ALDH1A1</i>	-2.428145564	3.65E-64
<i>KIAA0101</i>	3.337644706	1.32E-109	<i>LOC91149</i>	-2.428176498	3.13E-17
<i>HMX2</i>	3.333913372	4.56E-08	<i>CYP1A2</i>	-2.430996733	1.75E-07
<i>C6orf126</i>	3.331254868	1.58E-33	<i>GABRG1</i>	-2.431356313	6.19E-20
<i>MSLNL</i>	3.324827373	1.38E-13	<i>SCN4B</i>	-2.433699365	4.33E-90
<i>CENPA</i>	3.318328254	1.53E-87	<i>BMP2</i>	-2.43450985	1.54E-47
<i>SDR9C7</i>	3.315664555	0.000998008	<i>HPD</i>	-2.4353808	1.64E-35
<i>KRT78</i>	3.305615493	0.00193682	<i>RASL10A</i>	-2.43539126	4.58E-38

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>SKA1</i>	3.30170972	1.04E-107	<i>PTH1R</i>	-2.436194452	1.70E-44
<i>C7orf52</i>	3.300781994	1.59E-09	<i>CNTFR</i>	-2.436661456	4.69E-22
<i>KISS1R</i>	3.298715774	1.02E-24	<i>SHOX</i>	-2.438718724	1.88E-12
<i>CXADRP3</i>	3.296441486	5.14E-29	<i>CCDC141</i>	-2.440692329	1.41E-37
<i>ZIC5</i>	3.292946524	5.08E-18	<i>AOX1</i>	-2.442474799	3.46E-42
<i>LOC389332</i>	3.289248073	4.53E-09	<i>AQP4</i>	-2.445273904	9.04E-34
<i>CENPF</i>	3.288213062	8.14E-115	<i>ACSL1</i>	-2.445654187	8.05E-44
<i>LHFPL5</i>	3.287356219	7.29E-26	<i>NDRG2</i>	-2.447659052	8.13E-90
<i>NBPF6</i>	3.282394047	3.19E-17	<i>PII5</i>	-2.449019653	2.21E-21
<i>RIMS4</i>	3.270805529	9.26E-37	<i>GIPC2</i>	-2.451837385	1.92E-67
<i>FAM135B</i>	3.268537409	1.01E-14	<i>FLJ37543</i>	-2.452552115	1.04E-34
<i>LOC648691</i>	3.261433262	6.43E-08	<i>MTIM</i>	-2.454563685	5.79E-47
<i>GRM8</i>	3.260663692	5.89E-64	<i>HOXA4</i>	-2.456357111	4.35E-106
<i>RDM1</i>	3.259217492	8.28E-53	<i>SPTB</i>	-2.461845081	6.76E-24
<i>PNLIPRP2</i>	3.254249183	8.65E-14	<i>STAC3</i>	-2.464736473	5.43E-12
<i>CXorf59</i>	3.252552373	3.33E-17	<i>P2RY12</i>	-2.468019376	7.20E-51
<i>CLSPN</i>	3.242555773	4.45E-87	<i>OR2L13</i>	-2.468182086	3.55E-22
<i>OR1F1</i>	3.239036669	1.30E-07	<i>WDR86</i>	-2.471957414	2.37E-55
<i>HAGHL</i>	3.237571236	7.88E-81	<i>KRTAP13-4</i>	-2.47288938	2.28E-08
<i>RGS7</i>	3.236917134	1.74E-19	<i>GSN</i>	-2.47787987	4.08E-96
<i>CCNB2</i>	3.229547544	8.82E-96	<i>DTX1</i>	-2.47812852	3.11E-62
<i>PDX1</i>	3.224073341	0.034524016	<i>HOXA5</i>	-2.479676086	7.44E-77
<i>ATXN8OS</i>	3.223577313	0.031237005	<i>GDA</i>	-2.481276006	1.30E-06
<i>FOXD1</i>	3.220041291	3.92E-37	<i>CXCL3</i>	-2.482294496	5.06E-28
<i>HMMR</i>	3.213285201	5.30E-88	<i>OR10A6</i>	-2.487546449	4.08E-12
<i>FNI</i>	3.212362301	8.51E-98	<i>EMILIN3</i>	-2.487733751	7.25E-28
<i>BIRC5</i>	3.21208759	1.11E-61	<i>C7orf41</i>	-2.488616825	2.81E-74
<i>MUC13</i>	3.211964979	3.01E-11	<i>MAB21L1</i>	-2.490510962	2.94E-64
<i>FAM177B</i>	3.20759802	2.07E-10	<i>MATN2</i>	-2.492313735	1.10E-67
<i>VIL1</i>	3.20603257	5.61E-10	<i>OBSCN</i>	-2.496143746	2.60E-21
<i>CDK1</i>	3.204847963	3.64E-123	<i>WIF1</i>	-2.498192252	4.65E-25
<i>ACAN</i>	3.204586233	3.32E-38	<i>CES4</i>	-2.499207286	1.03E-18
<i>DNAH11</i>	3.198246274	1.21E-17	<i>SYNPO2</i>	-2.499849	1.95E-66
<i>LOC146481</i>	3.192793214	0.010907162	<i>HOXA2</i>	-2.499953343	7.34E-70
<i>SPC25</i>	3.192596961	3.82E-115	<i>LOC339524</i>	-2.50482166	4.66E-48
<i>PCSK2</i>	3.191867228	0.00020759	<i>CLCA4</i>	-2.506947524	6.78E-52
<i>AURKB</i>	3.190145073	4.76E-73	<i>AK5</i>	-2.507771327	1.62E-31
<i>GAGE12D</i>	3.189467658	0.010777458	<i>C2orf84</i>	-2.513562649	2.88E-33
<i>KIF26B</i>	3.187072304	6.61E-96	<i>CCL21</i>	-2.516322121	9.03E-28
<i>MAGEA11</i>	3.186436637	6.08E-06	<i>PALMD</i>	-2.520265126	5.45E-65
<i>CPB1</i>	3.186245416	5.19E-08	<i>ASB4</i>	-2.520366827	0.002709601
<i>SLC15A1</i>	3.185436266	1.13E-15	<i>GFRAL</i>	-2.522198934	8.21E-09
<i>FAM83A</i>	3.18496023	5.07E-18	<i>HASI</i>	-2.522888935	3.97E-16

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>MCM10</i>	3.182717159	9.11E-82	<i>DUSP13</i>	-2.523380084	3.54E-30
<i>GRIA2</i>	3.176833035	2.30E-18	<i>LGI4</i>	-2.524353733	1.83E-77
<i>CCDC78</i>	3.169431135	5.70E-55	<i>ODF3L1</i>	-2.524901511	2.53E-47
<i>KLK4</i>	3.168728571	2.81E-48	<i>C19orf69</i>	-2.528583562	3.17E-28
<i>UBE2T</i>	3.168129943	2.79E-136	<i>EGR1</i>	-2.529479097	1.91E-53
<i>TYRP1</i>	3.167676135	4.91E-19	<i>RYR3</i>	-2.529944385	5.63E-75
<i>DSCR6</i>	3.164637789	3.05E-63	<i>LRRTM4</i>	-2.530086241	8.02E-18
<i>SYNGR4</i>	3.163380419	1.89E-37	<i>DPRX</i>	-2.531044067	7.33E-13
<i>IGF2BP1</i>	3.160852251	1.77E-28	<i>COX7A1</i>	-2.532171137	2.55E-49
<i>GLDC</i>	3.160219413	6.19E-23	<i>EBF3</i>	-2.533268182	7.31E-63
<i>FAM196A</i>	3.158380487	2.44E-40	<i>CHL1</i>	-2.535058569	7.30E-43
<i>CCR8</i>	3.155288582	2.12E-46	<i>FLJ43390</i>	-2.535222954	1.13E-16
<i>HIST3H2BB</i>	3.154539238	4.80E-37	<i>JPH2</i>	-2.537916038	4.12E-41
<i>DMP1</i>	3.152110186	2.11E-25	<i>IRX1</i>	-2.538378277	8.20E-32
<i>C14orf115</i>	3.150231744	0.000148989	<i>SPHKAP</i>	-2.540519361	1.59E-13
<i>CDCA2</i>	3.149250056	5.98E-75	<i>FNDC5</i>	-2.540663617	2.54E-10
<i>ADAMTS14</i>	3.147035821	2.49E-60	<i>KCNMB1</i>	-2.546065755	1.49E-54
<i>STRA8</i>	3.141076274	0.000708426	<i>CDH12</i>	-2.546422649	9.96E-50
<i>ZNF695</i>	3.140240506	7.54E-66	<i>FLJ42875</i>	-2.547112644	3.70E-52
<i>FAM72A</i>	3.135457268	5.31E-78	<i>SFRP1</i>	-2.552098877	8.08E-40
<i>CXorf22</i>	3.134117371	1.11E-25	<i>DGAT2</i>	-2.552271345	1.73E-56
<i>LOC440356</i>	3.1336441	8.07E-24	<i>SOSTDC1</i>	-2.553805952	6.70E-24
<i>CCNE2</i>	3.131766463	3.24E-107	<i>LOC284661</i>	-2.555873982	5.73E-13
<i>DEPDC1B</i>	3.126269592	2.35E-85	<i>GOLGA8G</i>	-2.555883181	7.10E-17
<i>AURKA</i>	3.124358668	3.61E-126	<i>CABP1</i>	-2.556976511	1.97E-53
<i>WDR38</i>	3.121033025	1.28E-14	<i>SGCZ</i>	-2.558996466	1.59E-13
<i>CABP7</i>	3.120942295	1.43E-09	<i>KRT14</i>	-2.567025644	1.33E-20
<i>C20orf103</i>	3.12036241	1.17E-64	<i>OR2L3</i>	-2.569114496	2.75E-16
<i>ELAVL2</i>	3.117770268	6.34E-52	<i>RGS6</i>	-2.570065359	5.63E-40
<i>ZPLD1</i>	3.115458225	2.52E-15	<i>KIF25</i>	-2.572867419	5.51E-28
<i>CDC45</i>	3.113676232	3.02E-64	<i>DKFZP434L187</i>	-2.573380013	1.29E-27
<i>DTL</i>	3.110419886	8.47E-106	<i>SPRR2F</i>	-2.573518874	3.24E-09
<i>YSK4</i>	3.105669842	3.65E-13	<i>PDE11A</i>	-2.575442024	5.65E-53
<i>BUB1B</i>	3.105581618	8.78E-87	<i>TESC</i>	-2.576629118	1.86E-49
<i>CXCR2P1</i>	3.104644681	4.70E-33	<i>C14orf49</i>	-2.577553081	5.20E-52
<i>JAKMIP1</i>	3.103291843	5.97E-50	<i>C4orf49</i>	-2.577766004	1.71E-63
<i>LOC400696</i>	3.10272832	4.42E-24	<i>PROKR1</i>	-2.578422165	1.59E-17
<i>ZIC2</i>	3.101186583	5.25E-31	<i>MEOX1</i>	-2.582335968	2.04E-39
<i>TRIML2</i>	3.095968563	4.20E-06	<i>IQSEC3</i>	-2.584899704	6.35E-60
<i>CASC5</i>	3.094858425	3.35E-82	<i>IL6</i>	-2.589778823	7.10E-26
<i>LOC100190940</i>	3.092334608	5.31E-05	<i>MEOX2</i>	-2.595678842	2.98E-59
<i>PAX7</i>	3.091843175	2.26E-31	<i>SCN5A</i>	-2.597980098	1.85E-51
<i>DLL3</i>	3.09107429	1.75E-13	<i>CETP</i>	-2.600835171	2.39E-26
<i>ROBO2</i>	3.090847831	9.03E-30	<i>C6</i>	-2.605228311	8.50E-17
<i>ARTN</i>	3.089681841	9.97E-51	<i>MOSCI</i>	-2.609966905	3.81E-49

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>NUSAP1</i>	3.089595717	7.24E-100	<i>NRG2</i>	-2.61045644	3.40E-33
<i>NCCRP1</i>	3.089482969	1.53E-21	<i>GPC3</i>	-2.613357983	2.19E-45
<i>FAM25B</i>	3.088512104	0.003864747	<i>LEPR</i>	-2.614774644	1.18E-73
<i>CXCL9</i>	3.082229141	1.60E-43	<i>GOLGA9P</i>	-2.617763122	8.54E-35
<i>ILIF5</i>	3.076148617	6.53E-06	<i>CD209</i>	-2.620160709	7.50E-42
<i>HOXC11</i>	3.071365934	5.40E-36	<i>AOC2</i>	-2.621778649	5.00E-58
<i>UGT3A2</i>	3.06702385	1.88E-07	<i>LMOD1</i>	-2.62450626	7.71E-112
<i>PNPLA1</i>	3.063709667	5.00E-09	<i>KCNB1</i>	-2.625437428	4.32E-33
<i>PRSS41</i>	3.061878128	0.000509877	<i>C3orf55</i>	-2.625469444	3.24E-40
<i>UMODL1</i>	3.05623356	1.97E-36	<i>MMD</i>	-2.627945561	9.89E-53
<i>MKI67</i>	3.055771928	3.79E-76	<i>CAV2</i>	-2.629423337	2.97E-88
<i>TMPRSS4</i>	3.050170721	1.34E-17	<i>GOLGA8C</i>	-2.630927067	1.47E-20
<i>ZBBX</i>	3.045677837	5.75E-06	<i>CMA1</i>	-2.634080228	1.30E-22
<i>IL17REL</i>	3.045249001	1.73E-33	<i>DMRT2</i>	-2.639034145	9.12E-39
<i>UPK1A</i>	3.042583522	1.40E-08	<i>TRPM1</i>	-2.639698589	8.07E-17
<i>SMC1B</i>	3.042202771	1.62E-33	<i>SCN2B</i>	-2.639703245	2.14E-49
<i>KCNG3</i>	3.041120639	5.59E-40	<i>USP44</i>	-2.645638972	2.12E-71
<i>SKA3</i>	3.03593569	2.00E-97	<i>PAK3</i>	-2.65543708	3.29E-42
<i>HS6ST3</i>	3.032535326	4.39E-35	<i>CLCN1</i>	-2.66186779	9.70E-07
<i>MATN3</i>	3.028691197	5.16E-85	<i>HTR2A</i>	-2.661999602	2.69E-38
<i>PEX5L</i>	3.025360849	4.60E-17	<i>NKAPL</i>	-2.665096738	6.22E-118
<i>DPY19L2P1</i>	3.02201331	1.09E-09	<i>CX3CL1</i>	-2.666810862	1.17E-66
<i>CDH7</i>	3.020785142	1.20E-16	<i>LOC285205</i>	-2.677977358	3.84E-27
<i>SPANXB2</i>	3.020311483	1.01E-07	<i>ACTG2</i>	-2.678109633	3.62E-35
<i>PRR11</i>	3.019728715	4.33E-62	<i>GOLGA8DP</i>	-2.685861779	5.04E-16
<i>TMEM90B</i>	3.018271245	2.07E-58	<i>NPAS4</i>	-2.687925551	8.01E-43
<i>CT45A1</i>	3.01741816	0.029309561	<i>GALNTL2</i>	-2.694282063	9.19E-54
<i>ULBP1</i>	3.012218126	2.96E-52	<i>HSD11B1</i>	-2.698262189	6.73E-38
<i>GTSF1</i>	3.007164729	1.80E-10	<i>LOC148145</i>	-2.699919475	4.72E-18
<i>TTK</i>	3.004771206	6.65E-82	<i>CGB7</i>	-2.700034381	5.37E-45
<i>GTSE1</i>	3.00258347	5.70E-83	<i>SHISA3</i>	-2.702612945	2.20E-39
<i>BEX1</i>	2.998927763	2.57E-11	<i>MRGPRX3</i>	-2.709399631	7.42E-21
<i>CDCA8</i>	2.996045499	6.58E-110	<i>TF</i>	-2.711334648	1.44E-27
<i>HCN4</i>	2.994804437	8.88E-07	<i>TDRD10</i>	-2.715823241	7.11E-113
<i>ESM1</i>	2.991872785	2.04E-91	<i>SSTR1</i>	-2.715823411	2.70E-68
<i>PTTG1</i>	2.991740254	9.64E-103	<i>GALR1</i>	-2.719690781	5.04E-27
<i>ESCO2</i>	2.990626581	5.36E-77	<i>GHR</i>	-2.72029601	2.78E-55
<i>C20orf114</i>	2.989938877	1.96E-23	<i>DLK1</i>	-2.726140289	3.03E-24
<i>ISG15</i>	2.988738457	3.85E-58	<i>CIQTNF9B</i>	-2.726524947	2.73E-63
<i>TNFRSF9</i>	2.98726861	1.12E-41	<i>BMP5</i>	-2.73071562	2.52E-26
<i>KIFC1</i>	2.984915557	6.41E-88	<i>HPR</i>	-2.734039565	5.36E-24
<i>PYY</i>	2.984464803	2.19E-17	<i>KLHL13</i>	-2.735341418	6.29E-64
<i>ASF1B</i>	2.981242523	1.13E-107	<i>CMYA5</i>	-2.737149396	1.45E-07

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>FAM72D</i>	2.974929444	2.32E-74	<i>KIAA1239</i>	-2.742206179	1.18E-28
<i>C6orf222</i>	2.971393631	5.03E-16	<i>FAM166B</i>	-2.745314098	1.12E-22
<i>C11orf86</i>	2.968056261	7.53E-05	<i>KCNH5</i>	-2.751267192	3.25E-16
<i>NCAPG</i>	2.967857355	2.42E-89	<i>KIT</i>	-2.751558341	6.73E-44
<i>CST6</i>	2.967011578	3.74E-39	<i>ADRB2</i>	-2.752706742	4.06E-81
<i>C9orf169</i>	2.964242012	2.37E-46	<i>FAM107A</i>	-2.753068492	6.53E-54
<i>KIF15</i>	2.962727287	6.27E-79	<i>LPPR1</i>	-2.758004384	4.00E-31
<i>CCDC19</i>	2.96180416	4.17E-62	<i>HSPB2</i>	-2.759280097	2.63E-90
<i>IFNB1</i>	2.959689376	9.34E-12	<i>TMEM195</i>	-2.760610705	8.73E-35
<i>CDCA5</i>	2.959505753	8.64E-97	<i>EBF1</i>	-2.761908454	2.90E-78
<i>TUBA3C</i>	2.958272745	4.85E-20	<i>TMEM37</i>	-2.76233395	5.36E-57
<i>CDKN3</i>	2.958192948	2.37E-101	<i>PRRG3</i>	-2.766932942	5.27E-52
<i>RAD54L</i>	2.957985627	1.88E-76	<i>CLDND2</i>	-2.769646651	2.66E-36
<i>RET</i>	2.957872768	9.89E-39	<i>BMPER</i>	-2.771599087	9.86E-49
<i>GP2</i>	2.954489086	1.84E-09	<i>CCL16</i>	-2.773173845	9.50E-49
<i>TNNI3</i>	2.953348461	1.30E-26	<i>MMP27</i>	-2.777642258	4.36E-34
<i>TCAM1P</i>	2.952799501	9.29E-20	<i>SEMA3G</i>	-2.780063333	1.12E-74
<i>ERCC6L</i>	2.949529224	1.71E-111	<i>LOC286367</i>	-2.780468629	3.24E-97
<i>TPH1</i>	2.948689897	0.001105908	<i>CCDC3</i>	-2.785288806	3.47E-71
<i>CNTD2</i>	2.947823393	4.63E-43	<i>SLC16A12</i>	-2.788191186	5.70E-51
<i>ONECUT2</i>	2.946703181	2.51E-31	<i>PIK3C2G</i>	-2.792926237	7.05E-29
<i>MS4A8B</i>	2.942146036	2.91E-21	<i>COL25A1</i>	-2.797316703	1.54E-67
<i>SALL4</i>	2.939803915	1.19E-87	<i>FAM181A</i>	-2.802042811	6.35E-27
<i>PROC</i>	2.937898002	6.19E-62	<i>CLDN5</i>	-2.80289378	3.23E-74
<i>NBPF4</i>	2.937348276	2.15E-23	<i>KLHL29</i>	-2.805107224	1.03E-141
<i>HOXB9</i>	2.936826246	3.64E-40	<i>ALDH1A2</i>	-2.80823286	4.23E-60
<i>DMBX1</i>	2.936665599	3.29E-31	<i>CDH4</i>	-2.809872097	6.13E-44
<i>NKX3-2</i>	2.934423525	4.53E-49	<i>VIP</i>	-2.810414207	2.21E-52
<i>LCN2</i>	2.934333722	0.000352252	<i>BMX</i>	-2.812134581	9.80E-56
<i>PLA2G4D</i>	2.933058794	1.32E-19	<i>PEBP4</i>	-2.812938721	0.000351941
<i>C12orf36</i>	2.930253714	0.001812797	<i>SCTR</i>	-2.813613295	2.47E-23
<i>C19orf21</i>	2.929204267	6.74E-40	<i>OTC</i>	-2.814218002	1.01E-13
<i>HIST1H2AG</i>	2.927267017	1.56E-23	<i>XPNPEP2</i>	-2.816978152	1.26E-37
<i>SYT1</i>	2.92407092	1.74E-32	<i>GPR146</i>	-2.818464705	8.17E-98
<i>COL29A1</i>	2.923167974	2.79E-14	<i>F10</i>	-2.820959852	6.56E-64
<i>FAM57B</i>	2.917590816	1.99E-30	<i>TNSI</i>	-2.822889606	3.66E-94
<i>CDCA3</i>	2.913131337	4.95E-93	<i>MAOA</i>	-2.823700735	1.31E-39
<i>ZIC3</i>	2.909979499	2.27E-08	<i>PPP1R14A</i>	-2.827103483	1.68E-76
<i>FAM54A</i>	2.90861587	2.14E-94	<i>ARHGAP20</i>	-2.829072438	1.75E-99
<i>PP14571</i>	2.908464164	8.32E-32	<i>GPR17</i>	-2.829566599	3.03E-69
<i>IL24</i>	2.908021361	1.13E-20	<i>ASB12</i>	-2.835607291	0.004616759
<i>ARL14</i>	2.904213458	1.21E-08	<i>AKR1C2</i>	-2.835697595	2.00E-26
<i>NETO1</i>	2.902162786	2.85E-26	<i>LILRB5</i>	-2.838650511	5.65E-44
<i>KIAA0319</i>	2.902051364	2.06E-32	<i>DMGDH</i>	-2.841367128	9.50E-60
<i>PSCA</i>	2.901740473	2.39E-26	<i>SVEP1</i>	-2.845162286	2.76E-68

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>CENPI</i>	2.900577706	1.85E-88	<i>MMRN1</i>	-2.848678224	1.24E-42
<i>CENPE</i>	2.89932646	2.49E-98	<i>PHKG1</i>	-2.849671098	1.91E-32
<i>KCNK15</i>	2.897779541	1.61E-44	<i>NIPSNAP3B</i>	-2.852035194	6.08E-68
<i>CLGN</i>	2.897456616	8.51E-41	<i>PMP2</i>	-2.856587399	4.15E-12
<i>CLEC6A</i>	2.893032244	1.30E-12	<i>SLC7A14</i>	-2.858759118	3.99E-38
<i>ARMC3</i>	2.883886301	2.17E-25	<i>PDE2A</i>	-2.860467484	2.62E-92
<i>GAL</i>	2.883429684	1.12E-21	<i>CCDC69</i>	-2.860717116	6.91E-73
<i>TUBA3E</i>	2.883137742	9.25E-20	<i>FREMI</i>	-2.871375621	6.47E-48
<i>E2F7</i>	2.879546597	1.59E-69	<i>ADCYAP1R1</i>	-2.874057888	1.19E-39
<i>SCUBE3</i>	2.877121183	1.49E-39	<i>DMD</i>	-2.879405482	1.69E-80
<i>CD1A</i>	2.877052488	1.89E-22	<i>TP53AIP1</i>	-2.880734218	1.05E-47
<i>C12orf56</i>	2.875845367	5.58E-05	<i>IGSF10</i>	-2.883969413	6.37E-70
<i>CCNA2</i>	2.874846717	2.84E-88	<i>AKRIC1</i>	-2.887932529	2.05E-31
<i>CAMK2N2</i>	2.874625019	1.43E-60	<i>CIQTNF9</i>	-2.888173372	1.28E-60
<i>FRG2B</i>	2.866129864	0.008514152	<i>CLCA1</i>	-2.890942241	0.008274074
<i>PTTG3P</i>	2.861163349	3.57E-34	<i>ANGPT1</i>	-2.894411262	3.55E-69
<i>LOC400940</i>	2.858098977	8.25E-10	<i>AVPR2</i>	-2.901858251	1.83E-68
<i>LHX9</i>	2.85665916	4.29E-08	<i>ANGPTL1</i>	-2.907289755	1.17E-61
<i>SAMD11</i>	2.855803956	3.02E-37	<i>MYH7B</i>	-2.910650374	3.62E-50
<i>NCAN</i>	2.854816673	2.86E-07	<i>RRAD</i>	-2.910922013	8.43E-32
<i>RAB26</i>	2.854225598	4.80E-62	<i>DNASE1L3</i>	-2.911136174	4.27E-48
<i>GPRIN1</i>	2.853922529	1.20E-107	<i>PCDH9</i>	-2.913979666	8.58E-45
<i>MAGEA9B</i>	2.851042264	0.046507	<i>MAMDC2</i>	-2.914254611	2.97E-99
<i>FAM64A</i>	2.8509563	7.63E-63	<i>TPPP2</i>	-2.921355854	2.27E-20
<i>FAM111B</i>	2.848146024	2.40E-64	<i>TMEM100</i>	-2.925940015	1.39E-39
<i>SYNGR3</i>	2.847326001	6.26E-58	<i>LOC415056</i>	-2.926205539	1.32E-21
<i>FOXA3</i>	2.843940542	5.64E-20	<i>SYN2</i>	-2.930224997	1.15E-53
<i>NTNG1</i>	2.839495728	3.06E-21	<i>ADAMTS5</i>	-2.932216582	1.84E-138
<i>GCNT3</i>	2.838306498	1.71E-07	<i>LCN6</i>	-2.935617883	4.25E-34
<i>SORCS3</i>	2.836667502	1.54E-09	<i>HESRG</i>	-2.949983887	3.69E-18
<i>OPRD1</i>	2.835801355	1.67E-10	<i>SLC16A7</i>	-2.951571132	2.33E-49
<i>SPAG5</i>	2.832635919	3.69E-105	<i>TPO</i>	-2.953421461	6.01E-67
<i>TUBB3</i>	2.830672611	2.41E-56	<i>C20orf200</i>	-2.956672251	2.29E-14
<i>C1orf158</i>	2.828694596	5.34E-05	<i>MME</i>	-2.963370488	1.60E-78
<i>HIST1H2BC</i>	2.823309198	2.19E-54	<i>C3orf45</i>	-2.968542694	2.71E-16
<i>P4HA3</i>	2.820617338	1.92E-62	<i>SLC17A7</i>	-2.973291616	1.24E-75
<i>PRR4</i>	2.818665002	0.001841878	<i>COL6A6</i>	-2.975810147	9.28E-49
<i>NCAPH</i>	2.816165873	2.21E-83	<i>ADAM33</i>	-2.985234648	5.25E-83
<i>NPHS1</i>	2.81542663	2.07E-11	<i>ANKRD53</i>	-2.989326169	7.44E-68
<i>MAGEC1</i>	2.80942194	1.80E-07	<i>ART1</i>	-2.990782004	3.47E-06
<i>SNORA71D</i>	2.809389538	0.04798707	<i>RELN</i>	-2.993591617	5.24E-39
<i>SNTN</i>	2.809217236	2.56E-19	<i>HLF</i>	-2.996763015	3.31E-85
<i>FAM75A2</i>	2.808584178	3.09E-06	<i>NAALAD2</i>	-3.00398588	2.40E-61

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>TK1</i>	2.806602718	1.43E-91	<i>FMO2</i>	-3.004383811	4.09E-61
<i>KIAA1211</i>	2.805394232	7.46E-58	<i>ADH1C</i>	-3.008952027	1.56E-34
<i>SOX3</i>	2.804716238	0.00114506	<i>GPR109A</i>	-3.009262236	7.59E-54
<i>MND1</i>	2.804656576	7.87E-55	<i>GPLD1</i>	-3.012341253	1.87E-54
<i>C2orf14</i>	2.802015046	7.10E-06	<i>CCL14</i>	-3.012400207	2.99E-66
<i>IL29</i>	2.800670403	1.04E-12	<i>PPARG</i>	-3.013648874	1.36E-62
<i>BMP8A</i>	2.799255275	5.93E-127	<i>EFCAB1</i>	-3.02018644	8.78E-50
<i>HIST2H2AA3</i>	2.787123898	1.57E-66	<i>CAPZA3</i>	-3.023209832	2.96E-30
<i>SHCBP1</i>	2.781385889	6.15E-78	<i>NAT8L</i>	-3.025466949	1.45E-44
<i>KIF23</i>	2.778199243	4.67E-102	<i>CRYAB</i>	-3.041738886	1.14E-48
<i>HEPHL1</i>	2.777726469	1.40E-13	<i>HRC</i>	-3.042417497	4.66E-18
<i>CCDC135</i>	2.777376228	7.81E-11	<i>MRGPRX2</i>	-3.050672797	3.92E-25
<i>OIP5</i>	2.777035452	6.03E-84	<i>PPBP</i>	-3.05276256	2.56E-24
<i>CTXN2</i>	2.769032086	5.26E-20	<i>GCOM1</i>	-3.053998617	4.68E-73
<i>FOXD3</i>	2.768741264	2.83E-21	<i>SCN3A</i>	-3.058440444	6.88E-72
<i>BARX1</i>	2.768597079	3.79E-05	<i>ACSM2B</i>	-3.067562169	1.66E-28
<i>ESPL1</i>	2.765293965	2.56E-68	<i>SYNM</i>	-3.067786749	6.20E-64
<i>C2orf48</i>	2.761004478	4.15E-31	<i>GPBAR1</i>	-3.072559233	7.44E-67
<i>PROZ</i>	2.757647878	1.05E-08	<i>VIT</i>	-3.081924547	8.25E-64
<i>BASE</i>	2.756680522	0.002560989	<i>SLCO1A2</i>	-3.084612774	1.80E-32
<i>FERIL6</i>	2.755690947	1.09E-12	<i>SAMD5</i>	-3.08676997	4.90E-67
<i>FRG2C</i>	2.753433592	0.000358183	<i>TMC2</i>	-3.090295672	1.04E-50
<i>POLQ</i>	2.75064324	1.20E-73	<i>MYBPC1</i>	-3.094000423	1.85E-12
<i>FOXN4</i>	2.74563462	1.46E-09	<i>LOC90586</i>	-3.095859338	5.01E-64
<i>CCL20</i>	2.744592299	1.25E-16	<i>CAVI</i>	-3.102152869	1.25E-110
<i>NPW</i>	2.742469584	5.85E-20	<i>C14orf139</i>	-3.105123865	1.44E-84
<i>MC5R</i>	2.734480881	7.49E-12	<i>KLHL30</i>	-3.113406535	2.34E-40
<i>CTSE</i>	2.734309896	3.05E-05	<i>GPR112</i>	-3.11566653	1.00E-22
<i>NKX6-1</i>	2.733794302	1.45E-26	<i>CFD</i>	-3.134038764	5.54E-47
<i>PACSINI</i>	2.730956871	1.34E-69	<i>CPA2</i>	-3.135405628	4.91E-29
<i>HIST1H4H</i>	2.728641022	4.32E-39	<i>ZBTB16</i>	-3.136779364	6.06E-49
<i>CALCB</i>	2.728067284	1.86E-06	<i>BHMT2</i>	-3.140382954	3.66E-68
<i>CFB</i>	2.727549581	1.48E-51	<i>TMEFF2</i>	-3.141339033	2.48E-22
<i>SPAG6</i>	2.723769593	4.00E-14	<i>KCNA2</i>	-3.14170421	1.57E-41
<i>PLAC2</i>	2.722923512	3.23E-43	<i>C13orf26</i>	-3.14225991	3.20E-15
<i>APOBEC3B</i>	2.718449006	2.38E-46	<i>C18orf34</i>	-3.143250602	5.01E-73
<i>PTCHD2</i>	2.715061502	2.76E-28	<i>ADRB3</i>	-3.14333518	6.50E-20
<i>HS3ST6</i>	2.713046607	0.00129351	<i>SPOCK3</i>	-3.156367526	4.77E-27
<i>HOXC13</i>	2.712599795	1.75E-40	<i>CAPN11</i>	-3.161900892	3.90E-106
<i>DIAPH3</i>	2.708934827	7.74E-68	<i>TEPP</i>	-3.165484744	2.92E-36
<i>SLC8A2</i>	2.70269017	9.89E-12	<i>TSLP</i>	-3.172695722	8.19E-106
<i>MUC1</i>	2.700900294	3.46E-48	<i>PLXNA4</i>	-3.180498292	6.83E-64
<i>LOC643719</i>	2.700709394	1.41E-35	<i>SMTNL2</i>	-3.180689426	1.11E-12
<i>NGB</i>	2.700512942	3.49E-07	<i>COL17A1</i>	-3.183742464	4.11E-40
<i>FAM72B</i>	2.695989624	5.21E-76	<i>KLK2</i>	-3.184122978	1.04E-19

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>LEFTY1</i>	2.695612492	0.039158259	<i>PRHOXNB</i>	-3.184441723	4.46E-09
<i>TEKT1</i>	2.694753773	0.000838208	<i>ACSM2A</i>	-3.194007618	6.20E-44
<i>IL28A</i>	2.690033644	0.000591702	<i>NTS</i>	-3.19479831	8.24E-14
<i>TMEM82</i>	2.68848792	1.29E-07	<i>PTN</i>	-3.202749453	1.32E-54
<i>MIOX</i>	2.683928341	1.12E-06	<i>SAAI</i>	-3.210548139	6.17E-36
<i>HIST1H4J</i>	2.679476345	6.61E-37	<i>NTF4</i>	-3.215608382	1.08E-52
<i>LRR31</i>	2.678332939	6.02E-15	<i>DPT</i>	-3.220798378	5.69E-67
<i>VSTM2L</i>	2.674699226	7.77E-29	<i>SGK2</i>	-3.224517637	4.33E-42
<i>TUBA3D</i>	2.673490817	5.48E-28	<i>SLC7A3</i>	-3.22834059	2.17E-30
<i>CACNA1B</i>	2.670533704	5.76E-22	<i>RAX2</i>	-3.228368764	2.80E-31
<i>CBX2</i>	2.670311573	1.32E-59	<i>MUSTN1</i>	-3.230843738	7.55E-45
<i>ADAMDEC1</i>	2.670049252	5.77E-23	<i>P2RX6</i>	-3.232392334	8.63E-48
<i>RAD51</i>	2.668668137	9.08E-89	<i>C13orf36</i>	-3.232708979	5.22E-27
<i>C20orf201</i>	2.664667627	7.87E-15	<i>HAS3</i>	-3.234538767	1.27E-80
<i>LOC221122</i>	2.661134745	3.51E-13	<i>MURC</i>	-3.244795961	2.62E-19
<i>AMZ1</i>	2.659987817	4.35E-32	<i>HS3ST4</i>	-3.2493129	2.38E-44
<i>LOC340017</i>	2.658283757	0.048765763	<i>PAQR9</i>	-3.252000805	1.52E-05
<i>E2F8</i>	2.657665968	1.47E-83	<i>RERGL</i>	-3.260132666	6.10E-56
<i>ENTPD8</i>	2.656922424	4.31E-26	<i>NNAT</i>	-3.260367674	1.49E-40
<i>TRIM15</i>	2.65660691	3.70E-08	<i>LRRN4CL</i>	-3.271995978	6.44E-85
<i>PRC1</i>	2.654879274	1.03E-107	<i>NXNL1</i>	-3.272237636	9.28E-32
<i>PLA2G10</i>	2.649500367	3.27E-23	<i>CTXN3</i>	-3.275836827	1.36E-06
<i>SOX11</i>	2.649486528	1.63E-25	<i>ABCA9</i>	-3.278511128	7.63E-67
<i>CCKBR</i>	2.643980874	2.09E-06	<i>PDE1C</i>	-3.282840538	4.71E-76
<i>HIST1H2BG</i>	2.642510209	1.12E-29	<i>FGFBP2</i>	-3.28399451	7.47E-59
<i>CDC6</i>	2.641083722	4.02E-73	<i>CD36</i>	-3.286491733	2.77E-47
<i>NIPAL4</i>	2.640248817	1.24E-14	<i>GFAP</i>	-3.288678476	3.23E-48
<i>KIF11</i>	2.637211534	2.26E-102	<i>PKD1L2</i>	-3.29447668	3.39E-52
<i>DYDC1</i>	2.636161515	1.88E-10	<i>MYEOV</i>	-3.297927349	6.28E-51
<i>CYP2W1</i>	2.635617826	0.00100071	<i>MOGAT1</i>	-3.297949981	3.20E-24
<i>GPRC5A</i>	2.634611767	9.45E-71	<i>PF4</i>	-3.299229958	6.47E-13
<i>CNTN5</i>	2.634310045	7.95E-05	<i>HPSE2</i>	-3.304022888	5.94E-42
<i>CDH19</i>	2.633598462	0.000254265	<i>FEZF2</i>	-3.304347993	1.12E-16
<i>RHBG</i>	2.633250192	8.73E-24	<i>DLK2</i>	-3.306221301	5.77E-64
<i>FSIP1</i>	2.632985774	2.22E-31	<i>DACT2</i>	-3.3159625	8.22E-54
<i>IFI6</i>	2.630006164	7.87E-45	<i>PROK1</i>	-3.316094393	3.85E-32
<i>KRT6A</i>	2.629774963	0.000938213	<i>FAM71A</i>	-3.321603811	4.85E-19
<i>HIST1H2BE</i>	2.627232079	5.77E-51	<i>FLNC</i>	-3.324409112	1.51E-33
<i>MNX1</i>	2.62509243	8.00E-22	<i>MYADML2</i>	-3.326143181	5.82E-09
<i>BCAS1</i>	2.624591093	4.07E-30	<i>HIF3A</i>	-3.331855614	2.47E-45
<i>DMRT1</i>	2.62401944	1.55E-06	<i>OR10A3</i>	-3.334994477	2.46E-34
<i>PAX1</i>	2.623596493	1.06E-17	<i>PTPRQ</i>	-3.336324939	4.37E-31
<i>HRH3</i>	2.618116411	0.000598942	<i>CASQ2</i>	-3.336406305	1.01E-46

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>FCRLB</i>	2.617819812	1.05E-28	<i>KLF15</i>	-3.337549257	3.91E-70
<i>EDN2</i>	2.616722385	1.57E-33	<i>PAK7</i>	-3.348859865	1.16E-39
<i>VAX1</i>	2.61202121	0.017427993	<i>PDK4</i>	-3.35804914	1.27E-67
<i>HIST1H2BD</i>	2.611284704	2.04E-65	<i>PLAC9</i>	-3.368456489	1.52E-76
<i>GUCY1B2</i>	2.609590045	1.02E-17	<i>KY</i>	-3.375138557	9.91E-49
<i>SALL3</i>	2.609177087	9.27E-13	<i>PRG4</i>	-3.37714147	1.34E-29
<i>LOC285548</i>	2.609060072	3.42E-23	<i>MYBPH</i>	-3.377603919	5.44E-06
<i>SLC7A5</i>	2.60744559	1.49E-47	<i>SORBS1</i>	-3.38049439	4.77E-91
<i>CENPM</i>	2.602683628	6.96E-59	<i>SFTPB</i>	-3.380713631	2.21E-09
<i>CTHRC1</i>	2.602250181	2.34E-75	<i>ABCA8</i>	-3.391312323	6.11E-50
<i>MAPK8IP2</i>	2.600519854	1.91E-49	<i>PDE3B</i>	-3.401367769	1.35E-51
<i>APLP1</i>	2.598956234	3.41E-39	<i>C13orf39</i>	-3.402762335	0.004530946
<i>ERMN</i>	2.5974733	1.14E-44	<i>SELIL2</i>	-3.405828781	1.10E-22
<i>SLC44A4</i>	2.591218014	3.75E-35	<i>MYH11</i>	-3.406867941	7.85E-92
<i>LRFN2</i>	2.584555972	7.77E-27	<i>ELANE</i>	-3.406888487	3.89E-47
<i>KRT86</i>	2.582689181	0.000766477	<i>CNN1</i>	-3.409063324	4.61E-105
<i>KLHDC7B</i>	2.58181933	4.68E-27	<i>EDN3</i>	-3.409850397	2.11E-27
<i>KRT24</i>	2.578348821	0.020021255	<i>TRPM3</i>	-3.413984131	4.19E-63
<i>KIF18A</i>	2.576459693	8.09E-84	<i>MAP1LC3C</i>	-3.415083403	6.89E-65
<i>NBPF22P</i>	2.575248088	2.63E-15	<i>CSN3</i>	-3.424289932	2.77E-21
<i>SLC45A2</i>	2.574685993	4.06E-11	<i>NPR1</i>	-3.427887194	7.36E-101
<i>TMEM132E</i>	2.57315519	9.98E-14	<i>MB</i>	-3.4317619	3.14E-29
<i>DVWA</i>	2.568281617	6.52E-09	<i>RPE65</i>	-3.436116256	1.29E-32
<i>DPEP1</i>	2.567996386	1.23E-34	<i>PLCZ1</i>	-3.437962421	3.28E-37
<i>ZNF280A</i>	2.567083499	3.81E-06	<i>GDF10</i>	-3.438079803	5.93E-59
<i>CLRN1</i>	2.566484871	0.000154028	<i>PROL1</i>	-3.439866309	8.41E-17
<i>GALNT5</i>	2.564856801	8.45E-24	<i>CAMK2A</i>	-3.445399204	2.18E-11
<i>SOX2</i>	2.560978563	4.93E-14	<i>RYR1</i>	-3.45058859	1.84E-10
<i>C1orf194</i>	2.554428653	2.34E-19	<i>DPP6</i>	-3.458313093	4.02E-109
<i>PADI3</i>	2.553668451	2.18E-19	<i>PPP1R1A</i>	-3.458368757	1.12E-40
<i>CLRN1OS</i>	2.552982656	8.15E-14	<i>ITGA7</i>	-3.458940449	8.71E-72
<i>ACMSD</i>	2.552479612	1.21E-13	<i>GLRA4</i>	-3.461585321	3.89E-34
<i>IL21R</i>	2.551767757	1.51E-47	<i>CAPN3</i>	-3.46215231	1.29E-45
<i>ZAN</i>	2.551419555	4.55E-13	<i>IL17B</i>	-3.463030549	3.86E-47
<i>MUC5B</i>	2.551047189	3.70E-19	<i>ASPA</i>	-3.463307758	1.26E-81
<i>ALG1L</i>	2.550972436	1.09E-27	<i>FOSB</i>	-3.465366022	7.14E-58
<i>ZWINT</i>	2.550471873	3.91E-98	<i>TRHDE</i>	-3.466573356	1.12E-34
<i>PADI1</i>	2.548837508	1.22E-16	<i>GSTM5</i>	-3.471822124	4.98E-40
<i>E2F2</i>	2.546518407	5.19E-55	<i>ABCB5</i>	-3.476571109	2.25E-52
<i>FSD1</i>	2.544600186	2.96E-13	<i>RHOXF1</i>	-3.481794675	9.35E-57
<i>RECQL4</i>	2.544463899	3.50E-72	<i>C3orf50</i>	-3.486924866	1.66E-36
<i>CCDC64</i>	2.544380942	5.58E-66	<i>SCN4A</i>	-3.487583455	9.88E-65
<i>CCNI2</i>	2.544023974	8.06E-19	<i>IGFBP6</i>	-3.498102155	3.86E-117
<i>LIX1</i>	2.54171951	1.21E-14	<i>MYO18B</i>	-3.498849334	3.97E-09
<i>SSX2</i>	2.540047101	0.002346709	<i>PAMR1</i>	-3.502418254	1.09E-129

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>WFDC13</i>	2.535790461	3.57E-07	<i>CI</i>	-3.503497785	6.37E-76
<i>C19orf33</i>	2.534952565	2.61E-30	<i>C2orf40</i>	-3.507292756	6.88E-55
<i>C16orf59</i>	2.532152903	9.17E-81	<i>GPIHBP1</i>	-3.510296181	4.25E-87
<i>TMEM190</i>	2.529177663	6.97E-10	<i>FAM196B</i>	-3.53145613	7.11E-50
<i>ANKRD30B</i>	2.527721021	1.18E-12	<i>B3GALT1</i>	-3.535112369	3.66E-64
<i>PMCH</i>	2.526232966	5.19E-21	<i>GABRA4</i>	-3.55169482	1.72E-26
<i>KCNE4</i>	2.518385073	1.06E-36	<i>KCNE1</i>	-3.555578519	2.90E-78
<i>ORC6L</i>	2.51696644	3.63E-66	<i>PAPPA2</i>	-3.557980198	1.01E-63
<i>LOC100131726</i>	2.516841201	1.14E-06	<i>ENAM</i>	-3.558630067	7.82E-12
<i>TRPM5</i>	2.516523818	8.06E-12	<i>RXRG</i>	-3.559445815	9.80E-47
<i>EME1</i>	2.512966455	1.35E-78	<i>PRRT4</i>	-3.565353041	9.74E-52
<i>C15orf50</i>	2.512149755	2.80E-15	<i>SDPR</i>	-3.573673883	3.04E-97
<i>SLC16A6</i>	2.510930432	2.86E-29	<i>ATOH8</i>	-3.578113068	4.44E-109
<i>SPP1</i>	2.50992109	3.09E-36	<i>GPX3</i>	-3.579265449	1.53E-74
<i>PAQR4</i>	2.50636867	2.73E-100	<i>AOC3</i>	-3.580455071	3.11E-83
<i>GNG4</i>	2.505980429	3.52E-24	<i>PFKFB1</i>	-3.580643849	1.13E-48
<i>C16orf75</i>	2.503529723	8.30E-81	<i>CDH20</i>	-3.582484889	2.97E-48
<i>PNCK</i>	2.494076553	2.08E-28	<i>CLDN19</i>	-3.591500188	2.34E-46
<i>LYZL2</i>	2.491208128	2.34E-05	<i>ACACB</i>	-3.593579069	7.73E-83
<i>TRIP13</i>	2.487125653	4.77E-80	<i>SAA2</i>	-3.59445512	1.18E-40
<i>NTSR1</i>	2.48692057	1.10E-20	<i>KLK3</i>	-3.598662379	8.63E-28
<i>POSTN</i>	2.484246427	4.40E-63	<i>KCNA4</i>	-3.607010715	2.97E-36
<i>GBP5</i>	2.484031545	3.70E-37	<i>PKHD1L1</i>	-3.608326167	1.82E-52
<i>TDRG1</i>	2.481364663	9.75E-10	<i>DCT</i>	-3.609538022	1.50E-38
<i>ELFN2</i>	2.474898693	1.59E-16	<i>LOC647309</i>	-3.613270102	1.76E-27
<i>CST9</i>	2.474834234	0.001181936	<i>C6orf58</i>	-3.614231885	1.52E-09
<i>RIMS2</i>	2.472475404	2.70E-19	<i>KLHL31</i>	-3.614806346	3.70E-67
<i>GPR158</i>	2.471854867	7.88E-23	<i>SGCG</i>	-3.614940288	5.46E-38
<i>KRT16</i>	2.468633588	0.002265219	<i>ABCA10</i>	-3.626020976	6.28E-80
<i>PXDNL</i>	2.466375786	3.37E-09	<i>PI16</i>	-3.643549203	1.88E-42
<i>CALHMI</i>	2.465988061	6.31E-24	<i>SYPL2</i>	-3.646410934	6.45E-16
<i>KCNG1</i>	2.46360511	2.55E-07	<i>GRIA4</i>	-3.663494394	1.18E-44
<i>CCNB1</i>	2.457799402	3.52E-119	<i>MESTIT1</i>	-3.674108076	2.50E-84
<i>KCNJ6</i>	2.456536957	1.98E-12	<i>ANGPT4</i>	-3.680677929	1.40E-74
<i>OTP</i>	2.456058799	2.92E-08	<i>ALAS2</i>	-3.692071664	4.24E-25
<i>MKRN3</i>	2.455798678	4.96E-13	<i>LOC728264</i>	-3.693963678	6.37E-131
<i>HIST1H2BJ</i>	2.454961736	4.76E-49	<i>FITM1</i>	-3.707239505	0.000148488
<i>GPR37L1</i>	2.453999814	4.65E-20	<i>CLEC4G</i>	-3.70960242	1.66E-41
<i>CCNE1</i>	2.453254569	1.70E-59	<i>ACADL</i>	-3.71670941	2.08E-46
<i>AKR7A3</i>	2.451120665	1.51E-23	<i>CES1</i>	-3.724928064	8.23E-66
<i>CXCL17</i>	2.448078175	3.29E-12	<i>XAGE3</i>	-3.732186984	9.23E-12
<i>BGN</i>	2.446923821	3.95E-79	<i>BMP3</i>	-3.735934788	9.00E-48
<i>LRRCS2</i>	2.446379302	0.000673438	<i>CHRNA3</i>	-3.748496455	0.01073414

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>GJA3</i>	2.440122395	6.69E-32	<i>CLEC4GP1</i>	-3.760309928	4.28E-52
<i>CACNA1H</i>	2.439302058	2.65E-26	<i>MYOM3</i>	-3.761804798	1.86E-25
<i>CST9L</i>	2.437955928	8.94E-06	<i>STAB2</i>	-3.773665207	1.31E-57
<i>KIF4B</i>	2.436563794	7.13E-52	<i>ACSM5</i>	-3.776734634	8.23E-78
<i>CELSR3</i>	2.436558909	2.72E-57	<i>GYG2</i>	-3.778150208	6.82E-73
<i>ARA2A</i>	2.434888025	4.57E-54	<i>NMUR1</i>	-3.786820252	2.13E-82
<i>ISL2</i>	2.431319354	1.47E-10	<i>RNF186</i>	-3.79436452	9.34E-47
<i>TH</i>	2.429935126	1.76E-16	<i>MASP1</i>	-3.805981898	3.47E-64
<i>C1orf65</i>	2.429883046	1.11E-13	<i>MLXIPL</i>	-3.808126325	2.16E-63
<i>CKS2</i>	2.429439421	2.11E-101	<i>LOC572558</i>	-3.818357652	2.02E-59
<i>F12</i>	2.429210459	1.88E-44	<i>LRRC2</i>	-3.818995	3.71E-69
<i>MGAT5B</i>	2.424660249	3.96E-27	<i>OVCH2</i>	-3.820156049	1.77E-43
<i>FOXP3</i>	2.424335974	1.12E-48	<i>CXCL2</i>	-3.826490807	9.38E-78
<i>TSPAN1</i>	2.423830193	1.47E-31	<i>TNXB</i>	-3.829243505	1.43E-89
<i>RPLP0P2</i>	2.423720842	6.41E-94	<i>CLEC3B</i>	-3.834204923	1.45E-105
<i>TFF1</i>	2.419202759	6.62E-12	<i>ITIH5</i>	-3.840871199	9.56E-117
<i>GINS1</i>	2.414680715	2.10E-94	<i>ABCD2</i>	-3.858380837	1.32E-65
<i>CREB3L1</i>	2.410989408	6.80E-60	<i>KLHL33</i>	-3.859363682	4.25E-46
<i>SI00A14</i>	2.410811115	2.37E-35	<i>BTNL9</i>	-3.888902397	7.85E-106
<i>IGFALS</i>	2.40741243	1.92E-23	<i>TIMP4</i>	-3.899774722	1.84E-51
<i>LOC148709</i>	2.405506725	9.20E-48	<i>CRHBP</i>	-3.920788559	1.06E-69
<i>CLLU1OS</i>	2.404074625	0.000162783	<i>FAM180B</i>	-3.930050282	5.92E-49
<i>HES6</i>	2.40392139	1.85E-59	<i>PGAM2</i>	-3.941411602	4.69E-06
<i>PAH</i>	2.402668885	1.60E-15	<i>ITIH2</i>	-3.946636346	4.33E-32
<i>TLCD1</i>	2.401326368	3.36E-75	<i>LGALS12</i>	-3.973754536	2.30E-46
<i>PRB2</i>	2.400287128	0.038468885	<i>ANGPTL5</i>	-3.980245247	2.76E-40
<i>XAGE1D</i>	2.399012872	0.005952584	<i>LRRC3B</i>	-4.003425684	6.79E-103
<i>RXFP3</i>	2.396905947	1.57E-17	<i>CHRD1</i>	-4.031002975	1.37E-71
<i>IL1F9</i>	2.396759913	0.021398555	<i>KIAA0408</i>	-4.044177824	1.38E-34
<i>C19orf51</i>	2.396724158	1.14E-38	<i>FXYD1</i>	-4.04715032	1.05E-88
<i>C1orf125</i>	2.394435722	5.10E-10	<i>AADAC</i>	-4.050451674	8.77E-32
<i>SYN1</i>	2.393858032	9.78E-25	<i>ATP1A2</i>	-4.076951815	7.40E-45
<i>HOXC10</i>	2.393296703	9.72E-37	<i>SRL</i>	-4.078498372	1.19E-38
<i>LMNB1</i>	2.391323484	5.82E-82	<i>PGA5</i>	-4.079269476	2.02E-28
<i>KCNJ10</i>	2.390532359	4.88E-33	<i>CYP1A1</i>	-4.081731216	1.25E-26
<i>LOC150622</i>	2.388533914	2.46E-10	<i>GPAM</i>	-4.087659375	7.14E-105
<i>CPA6</i>	2.385635849	3.93E-18	<i>LOC642597</i>	-4.113945616	1.72E-36
<i>RHBDL1</i>	2.385224551	1.19E-42	<i>NT5C1A</i>	-4.116177197	0.004508575
<i>FAM5C</i>	2.382761896	3.32E-08	<i>SLC19A3</i>	-4.128985326	1.42E-52
<i>MFAP2</i>	2.382633937	1.26E-76	<i>ADH4</i>	-4.130356526	1.78E-51
<i>F7</i>	2.381775625	1.37E-27	<i>NOS1</i>	-4.139503939	5.83E-21
<i>GPR141</i>	2.381096866	1.40E-44	<i>G0S2</i>	-4.143493765	4.12E-74
<i>TAS1R3</i>	2.380806052	1.83E-21	<i>RBP4</i>	-4.143609266	2.82E-50
<i>KLK9</i>	2.376734132	0.016095708	<i>KLB</i>	-4.17217086	1.21E-81
<i>HIST2H4A</i>	2.376539743	1.98E-57	<i>GLP2R</i>	-4.213428486	3.32E-38

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>ANXA9</i>	2.376302105	8.12E-47	<i>LPL</i>	-4.256059918	9.03E-82
<i>CCDC151</i>	2.374305141	1.17E-30	<i>SGCA</i>	-4.267478348	1.41E-24
<i>UCPI</i>	2.374255759	0.000844305	<i>ANKRD2</i>	-4.275120229	0.000414252
<i>HOTAIR</i>	2.373692715	1.14E-18	<i>LIPE</i>	-4.293659926	1.99E-82
<i>ASCL4</i>	2.373157178	1.87E-09	<i>ADH1B</i>	-4.294407624	9.14E-48
<i>CXorf41</i>	2.369216488	2.74E-05	<i>TMEM132C</i>	-4.302217328	1.97E-65
<i>DEGS2</i>	2.367950181	1.53E-34	<i>LOC100133920</i>	-4.305282076	1.49E-24
<i>ZMYND10</i>	2.367277858	1.07E-32	<i>ADH1A</i>	-4.311750893	1.51E-47
<i>CORIN</i>	2.365393475	2.01E-31	<i>SMTNL1</i>	-4.313723078	1.41E-05
<i>RNASE10</i>	2.365010822	4.33E-22	<i>NPY2R</i>	-4.319822074	1.10E-31
<i>INHA</i>	2.364804723	1.05E-05	<i>HSPB6</i>	-4.339619505	8.57E-92
<i>FLJ32063</i>	2.363962182	0.00596126	<i>RDH5</i>	-4.341101663	1.16E-90
<i>CSMD2</i>	2.363666088	1.55E-48	<i>DEFB132</i>	-4.366508359	5.06E-52
<i>C7orf57</i>	2.360041504	0.000785536	<i>XIRP1</i>	-4.380040802	2.34E-37
<i>SYT9</i>	2.359351838	5.08E-21	<i>ACVR1C</i>	-4.388998503	8.28E-72
<i>TMPRSS6</i>	2.358774049	5.38E-19	<i>SLC2A4</i>	-4.396092287	4.01E-86
<i>CIQTNF6</i>	2.35764224	1.41E-95	<i>OXTR</i>	-4.411223548	2.46E-104
<i>SSTR2</i>	2.357487805	5.36E-34	<i>GPR144</i>	-4.429627343	2.38E-29
<i>ORCIL</i>	2.353540343	2.84E-53	<i>HBA1</i>	-4.431447114	3.73E-34
<i>UNC5A</i>	2.352994517	8.14E-29	<i>LHCGR</i>	-4.448315254	8.61E-40
<i>CCL15</i>	2.352958899	0.042466377	<i>PCOLCE2</i>	-4.467629322	2.80E-66
<i>TMEM92</i>	2.352801111	2.09E-30	<i>ADRA1A</i>	-4.470633557	4.88E-83
<i>NPBWR1</i>	2.352201666	0.016193488	<i>MYOG</i>	-4.485578462	1.78E-06
<i>ADAMTS19</i>	2.348040035	4.34E-17	<i>AADACL3</i>	-4.489362223	3.72E-26
<i>KPNA7</i>	2.347246405	4.29E-18	<i>ADIPOQ</i>	-4.492442892	4.38E-48
<i>C6orf127</i>	2.346556008	7.47E-17	<i>CKMT2</i>	-4.498007858	2.55E-58
<i>CD80</i>	2.343693815	1.82E-47	<i>APOB</i>	-4.512871186	1.79E-57
<i>TCL6</i>	2.343425565	1.96E-07	<i>HEPN1</i>	-4.520411246	8.11E-57
<i>CDSN</i>	2.340762437	3.84E-16	<i>HBA2</i>	-4.525885827	1.38E-69
<i>UPF0639</i>	2.338814625	3.38E-17	<i>TNMD</i>	-4.527251834	2.58E-85
<i>MT1H</i>	2.33768033	5.16E-10	<i>CIDEA</i>	-4.554387159	1.63E-46
<i>HMGB3</i>	2.337332937	1.65E-89	<i>C6orf142</i>	-4.560391631	2.09E-09
<i>OASL</i>	2.336610846	1.02E-40	<i>LOC283392</i>	-4.566093888	8.73E-48
<i>ILDR2</i>	2.329986135	8.75E-33	<i>HBB</i>	-4.576136813	1.36E-67
<i>PPY2</i>	2.329358239	0.009301377	<i>CD300LG</i>	-4.577646726	1.22E-80
<i>PPM1E</i>	2.32825055	1.17E-32	<i>BTN1A1</i>	-4.581426983	5.72E-22
<i>COL1A1</i>	2.327291672	5.65E-37	<i>TRIM63</i>	-4.619048679	0.005640945
<i>GNG3</i>	2.326995152	1.68E-17	<i>LYVE1</i>	-4.626781801	3.06E-112
<i>SLC23A1</i>	2.326025156	4.07E-35	<i>AQP7P3</i>	-4.62829432	1.16E-47
<i>LINGO1</i>	2.325217239	1.04E-37	<i>TUSC5</i>	-4.635369851	5.04E-53
<i>OLR1</i>	2.324450637	1.01E-47	<i>FABP4</i>	-4.642241713	2.48E-68
<i>DLX5</i>	2.323791145	1.80E-30	<i>DUSP26</i>	-4.648096052	1.32E-07
<i>RUFY4</i>	2.322314321	1.25E-15	<i>MYOM2</i>	-4.654069634	4.31E-45

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>MMP3</i>	2.321548141	1.62E-25	<i>PENK</i>	-4.657118215	1.86E-40
<i>COX6C</i>	2.319587638	2.97E-64	<i>PGA3</i>	-4.662985752	1.04E-60
<i>HIST1H4I</i>	2.3182938	1.34E-18	<i>GYS2</i>	-4.682872256	6.01E-58
<i>E2F1</i>	2.316060413	7.41E-68	<i>PGA4</i>	-4.685746203	1.26E-18
<i>METRN</i>	2.314177315	2.14E-48	<i>PCK1</i>	-4.692779053	4.65E-51
<i>TMEM171</i>	2.309095221	2.55E-19	<i>HBG1</i>	-4.693792602	8.21E-27
<i>WDR72</i>	2.307032066	3.49E-12	<i>LOC55908</i>	-4.706165388	1.76E-57
<i>KRT2</i>	2.304489851	4.07E-10	<i>CIDEC</i>	-4.714044994	1.08E-56
<i>OR56A3</i>	2.301280104	0.011071903	<i>ALDH1L1</i>	-4.714890387	4.49E-70
<i>OTX1</i>	2.300193712	1.47E-24	<i>AQP7P1</i>	-4.721449695	1.47E-61
<i>ADAM8</i>	2.299579555	1.99E-57	<i>HEPACAM</i>	-4.721602054	1.74E-59
<i>PLA2G3</i>	2.299431331	3.54E-12	<i>FRMD1</i>	-4.723435898	1.95E-75
<i>TTC9B</i>	2.299302787	1.49E-12	<i>AQP7</i>	-4.736045515	7.35E-70
<i>ARHGAP11A</i>	2.297667821	7.00E-76	<i>SCARA5</i>	-4.7562261	5.21E-76
<i>KIR2DL4</i>	2.295031214	3.04E-16	<i>C12orf39</i>	-4.769872248	7.47E-46
<i>RAD51AP1</i>	2.293909834	1.61E-76	<i>FIGF</i>	-4.773924317	3.58E-122
<i>MLF1IP</i>	2.293406594	5.48E-82	<i>FHL1</i>	-4.774043761	3.14E-114
<i>KRT81</i>	2.292091421	0.010846479	<i>GPD1</i>	-4.789903199	4.09E-70
<i>OR7E91P</i>	2.290042934	1.25E-24	<i>PLIN1</i>	-4.792802716	3.81E-71
<i>SLC1A1</i>	2.288390231	4.37E-29	<i>SLC7A10</i>	-4.794849223	2.82E-61
<i>NEURL</i>	2.2877486	5.19E-44	<i>MRAP</i>	-4.828156408	1.53E-45
<i>C3orf67</i>	2.287353743	2.35E-60	<i>AQPEP</i>	-4.83065331	5.82E-83
<i>MDGA2</i>	2.286790328	2.23E-05	<i>ANGPTL7</i>	-4.840220967	2.32E-72
<i>SQLE</i>	2.286394713	2.98E-69	<i>AMPD1</i>	-4.84192218	4.94E-20
<i>B4GALNT2</i>	2.286305685	8.23E-15	<i>ITLN1</i>	-4.876424638	2.31E-15
<i>C1orf135</i>	2.285586048	5.03E-76	<i>EPB42</i>	-4.9224386	1.99E-58
<i>CWH43</i>	2.284217311	4.91E-10	<i>HSPB7</i>	-4.928958016	4.20E-100
<i>UBE2S</i>	2.282425629	4.25E-73	<i>C14orf180</i>	-4.93217608	2.91E-56
<i>IL17C</i>	2.278453099	1.07E-06	<i>MYOM1</i>	-4.934997327	4.12E-101
<i>GRID2</i>	2.278047561	0.017912896	<i>CSF3</i>	-4.937105185	8.92E-48
<i>CACNG4</i>	2.275438864	1.66E-24	<i>CPA1</i>	-4.941087179	6.92E-90
<i>C12orf70</i>	2.273907786	5.34E-24	<i>KCNIP2</i>	-4.986793282	2.45E-95
<i>IGFBPL1</i>	2.273786456	2.68E-18	<i>HSD17B13</i>	-5.026510374	1.85E-98
<i>R3HDML</i>	2.272912414	1.86E-08	<i>CA4</i>	-5.033672321	4.94E-64
<i>SPRR1A</i>	2.27153928	0.016976806	<i>SLC22A12</i>	-5.039704434	9.20E-45
<i>IL4I1</i>	2.270536493	3.03E-41	<i>PLIN4</i>	-5.053570314	9.61E-85
<i>COL2A1</i>	2.269389177	3.52E-07	<i>CSN1S1</i>	-5.106534907	2.00E-42
<i>GDAP1L1</i>	2.268479833	0.000240247	<i>YIPF7</i>	-5.127637655	0.003932745
<i>GRIN2D</i>	2.264698769	5.90E-53	<i>ASB15</i>	-5.156491061	0.004602772
<i>ANKRD22</i>	2.263444649	1.40E-39	<i>SMYD1</i>	-5.159996553	2.10E-49
<i>CDC25A</i>	2.262660917	4.24E-52	<i>HBG2</i>	-5.164362686	2.22E-23
<i>SLURP1</i>	2.262503567	6.87E-10	<i>LOC729467</i>	-5.192334469	1.34E-48
<i>C13orf30</i>	2.260913969	2.51E-08	<i>GLYAT</i>	-5.218207265	4.49E-68
<i>BLM</i>	2.260534648	2.02E-57	<i>MYH13</i>	-5.311527109	0.011996211
<i>SRMS</i>	2.257982356	8.89E-29	<i>ACTN3</i>	-5.327093925	2.58E-07

Gene	log2Fold Change	p valor ajustado	Gene	log2Fold Change	p valor ajustado
<i>PSORS1C2</i>	2.256747968	2.88E-05	<i>KCNA7</i>	-5.349017243	0.020750793
<i>TFF3</i>	2.256627397	8.54E-18	<i>MYLK2</i>	-5.373058648	1.19E-23
<i>TNFRSF18</i>	2.254195803	1.10E-35	<i>MYOZ2</i>	-5.683024703	1.29E-25
<i>ZBED2</i>	2.254098538	4.75E-22	<i>LEP</i>	-5.733561235	1.07E-77
<i>AGR3</i>	2.253239402	2.34E-16	<i>MYOZ1</i>	-5.753937488	1.15E-09
<i>LRRC46</i>	2.252392068	3.14E-43	<i>LDB3</i>	-5.755564502	4.05E-26
<i>CALY</i>	2.251953348	2.05E-05	<i>HHATL</i>	-5.821258612	2.26E-50
<i>USH1C</i>	2.251831822	1.38E-06	<i>MYH1</i>	-5.824179581	1.29E-66
<i>SULF1</i>	2.251422741	3.00E-76	<i>CA3</i>	-5.833303522	3.55E-66
<i>C6orf191</i>	2.250166262	6.62E-09	<i>ACTN2</i>	-5.989493137	5.81E-19
<i>HCRTR2</i>	2.249587775	0.006739873	<i>TRDN</i>	-6.142995449	2.89E-45
<i>SDS</i>	2.247753725	6.29E-34	<i>MYOC</i>	-6.190549867	6.02E-73
<i>LGSN</i>	2.247353764	0.000145371	<i>UNC45B</i>	-6.209695141	0.000106418
<i>FRG2</i>	2.244380249	0.038225096	<i>C8orf22</i>	-6.213154147	3.15E-07
<i>PRMT8</i>	2.244017321	0.000118116	<i>DES</i>	-6.237534836	1.25E-60
<i>MT3</i>	2.243406232	2.65E-05	<i>TTN</i>	-6.241673881	3.36E-08
<i>KISS1</i>	2.24336673	9.85E-18	<i>TNNI2</i>	-6.257881442	5.23E-14
<i>AGR2</i>	2.242997533	6.89E-19	<i>TNNT3</i>	-6.381939632	9.06E-43
<i>ASPEN</i>	2.238662464	1.73E-31	<i>SLC36A2</i>	-6.395601946	4.77E-29
<i>SAMD14</i>	2.237504452	1.29E-50	<i>VGLL2</i>	-6.54609159	4.87E-10
<i>C15orf42</i>	2.237079915	9.97E-51	<i>SLN</i>	-6.757731304	1.34E-07
<i>BRIP1</i>	2.230917394	1.28E-54	<i>TMOD4</i>	-6.857799317	0.0212122
<i>ABHD12B</i>	2.23070804	9.31E-15	<i>APOBEC2</i>	-6.873228098	1.17E-05
<i>MARCH10</i>	2.229438011	1.50E-18	<i>CAV3</i>	-7.007176533	5.26E-31
<i>REG4</i>	2.227002373	3.20E-07	<i>ASB5</i>	-7.026627545	1.23E-08
<i>C15orf48</i>	2.225967287	1.39E-24	<i>MYL3</i>	-7.070038914	3.71E-13
<i>C6orf176</i>	2.225495916	0.028686961	<i>DYSFIP1</i>	-7.179441054	2.65E-05
<i>TNFSF4</i>	2.224823665	2.73E-60	<i>COX6A2</i>	-7.327171827	0.000996956
<i>NOTUM</i>	2.223635473	1.12E-16	<i>GADL1</i>	-7.346850863	3.03E-18
<i>DMRTC2</i>	2.221313836	2.38E-06	<i>PYGM</i>	-7.413842634	2.14E-88
<i>SCEL</i>	2.208148521	7.93E-06	<i>MYF6</i>	-7.475624908	2.64E-08
<i>FBN3</i>	2.207896425	3.70E-06	<i>MYH6</i>	-7.677918221	5.24E-06
<i>KPNA2</i>	2.207289371	6.03E-87	<i>ITGB1BP3</i>	-7.798080056	5.43E-11
<i>HIST1H1C</i>	2.206519804	1.06E-35	<i>ABRA</i>	-7.861045073	1.08E-13
<i>MAD2L1</i>	2.202535447	5.42E-81	<i>ATP2A1</i>	-7.867351008	7.13E-06
<i>VWA5B2</i>	2.199524899	8.39E-20	<i>FBXO40</i>	-8.051486053	4.47E-29
<i>SERPINA9</i>	2.199498151	4.10E-25	<i>MYOT</i>	-8.052218436	6.02E-15
<i>DLX2</i>	2.197857126	4.05E-11	<i>TNNC2</i>	-8.186275781	1.16E-26
<i>CIB4</i>	2.19717057	0.000611208	<i>C10orf71</i>	-8.476441517	0.002620357
<i>EZH2</i>	2.194397544	3.53E-76	<i>CSN2</i>	-8.494315071	3.39E-39
<i>GPR6</i>	2.193477999	0.015628218	<i>LMOD2</i>	-8.538769594	0.0277844
<i>RAMP1</i>	2.192003994	1.52E-36	<i>KBTBD5</i>	-8.633628926	0.000125973
<i>LYPD4</i>	2.190615028	8.05E-07	<i>RPL3L</i>	-8.653542701	0.000548892

Gene	<i>log2Fold Change</i>	<i>p</i> valor ajustado	Gene	<i>log2Fold Change</i>	<i>p</i> valor ajustado
<i>PRB3</i>	2.190374615	1.71E-09	<i>MYL2</i>	-8.71428763	0.000126261
<i>SHISA9</i>	2.188010939	8.77E-24	<i>NRAP</i>	-9.085825969	0.005376597
<i>IRS4</i>	2.187695212	4.76E-11	<i>MYH2</i>	-11.66940013	2.29E-10

Fonte: elaborada pela autora (2021).

APÊNDICE B – análise de enriquecimento do GO de genes diferencialmente expressos

Tabela S2 – Análise de enriquecimento do GO (processos biológicos, funções moleculares e componentes celulares) de genes diferencialmente expressos.

Termos do GO: processos biológicos	Genes: n (%)	p valor ajustado
GO:0003012 - processo de sistema muscular	113 (7,28%)	0,000
GO:0006936 - contração muscular	100 (6,44%)	0,000
GO:0042391 - regulação do potencial de membrana	87 (5,61%)	0,000
GO:0000280 - divisão nuclear	83 (5,35%)	0,000
GO:0048285 - fissão de organelas	83 (5,35%)	0,000
GO:0072507 - homeostase de cátions inorgânicos divalentes	83 (5,35%)	0,000
GO:0072503 - homeostase de cátions inorgânicos divalentes celulares	81 (5,22%)	0,000
GO:0055074 - homeostase do íon cálcio	76 (4,90%)	0,000
GO:0006874 - homeostase celular do íon cálcio	74 (4,77%)	0,000
GO:0030001 - transporte de íons metálicos	74 (4,77%)	0,000
Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
GO:0030546 - sinalização de atividade ativadora do receptor	85 (5,54%)	0,000
GO:0048018 - atividade do ligante do receptor	84 (5,48%)	0,000
GO:0022803 - atividade transportadora transmembrana passiva	80 (5,22%)	0,000
GO:0015267 - atividade do canal	79 (5,15%)	0,000
GO:0005216 - íon atividade do canal	74 (4,83%)	0,000
GO:0046873 - atividade do transportador transmembrana de íons metálicos	71 (4,63%)	0,000
GO:0022836 - atividade de canal fechado	68 (4,44%)	0,000
GO:0003779 - ligação de actina	65 (4,24%)	0,000
GO:0001216 - Atividade ativadora de transcrição de ligação a DNA	62 (4,04%)	0,001
GO:0005261 - atividade do canal iônico	61 (3,98%)	0,000
Termos do GO: componentes celulares	Genes: n (%)	p valor ajustado
GO:0062023 - matriz extracelular contendo colágeno	86 (5,29%)	0,000
GO:0043292 - fibra contrátil	69 (4,24%)	0,000
GO:0030016 - miofibrila	68 (4,18%)	0,000
GO:0030017 - sarcômero	64 (3,93%)	0,000
GO:0098793 - pré-sinapse	64 (3,93%)	0,002
GO:1902495 - complexo transportador transmembrana	61 (3,75%)	0,000
GO:1990351 - complexo transportador	61 (3,75%)	0,000
GO:0043025 - corpo celular neuronal	61 (3,75%)	0,004
GO:0097060 - membrana sináptica	58 (3,56%)	0,000
GO:0034702 - complexo de canal iônico	57 (3,50%)	0,000

Abreviações: n = número.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

APÊNDICE C – quantidade de genes enriquecidos nos 49 módulos da análise de coexpressão gênica utilizando todos os transcritos disponíveis

Quadro S1 – Quantidade de genes enriquecidos nos 49 módulos da análise de coexpressão gênica I.

Módulo	Quantidade de genes	Módulo	Quantidade de genes
<i>Bisque4</i>	27	<i>Magenta</i>	555
<i>Black</i>	567	<i>Mediumpurple3</i>	41
<i>Blue</i>	1.432	<i>Midnightblue</i>	354
<i>Brown</i>	928	<i>Orange</i>	128
<i>Brown4</i>	27	<i>Orangered4</i>	43
<i>Cyan</i>	356	<i>Paleturquoise</i>	83
<i>Darkgreen</i>	160	<i>Pink</i>	559
<i>Darkgrey</i>	137	<i>Plum1</i>	44
<i>Darkmagenta</i>	58	<i>Plum2</i>	22
<i>Darkolivegreen</i>	63	<i>Purple</i>	544
<i>Darkorange</i>	127	<i>Red</i>	720
<i>Darkorange2</i>	32	<i>Royalblue</i>	197
<i>Darkred</i>	167	<i>Saddlebrown</i>	101
<i>Darkslateblue</i>	24	<i>Salmon</i>	362
<i>Darkturquoise</i>	146	<i>Sienna3</i>	120
<i>Floralwhite</i>	34	<i>Skyblue</i>	101
<i>Greenyellow</i>	458	<i>Skyblue3</i>	45
<i>Grey60</i>	271	<i>Steelblue</i>	84
<i>Ivory</i>	35	<i>Tan</i>	407
<i>Lightcyan</i>	347	<i>Turquoise</i>	3.081
<i>Lightcyan1</i>	36	<i>Violet</i>	73
<i>Lightgreen</i>	260	<i>White</i>	126
<i>Lightsteelblue1</i>	39	<i>Yellow</i>	888
<i>Lightyellow</i>	223	<i>Yellowgreen</i>	46

Fonte: Elaborada pela autora (2021).

**APÊNDICE D – análise de enriquecimento do KEGG das redes de coexpressão gênica
(usando todos os transcritos)**

Tabela S3 - Análise de enriquecimento do KEGG das redes de coexpressão gênica (usando todos os transcritos).

Módulo	Termo KEGG	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Bisque4</i>	hsa04512: Interação ECM-receptor	2 (2%)	0,044
	hsa05222: Câncer de pulmão de células pequenas	2 (2%)	0,044
<i>Brown</i>	hsa04110: Ciclo celular	42 (9,81%)	0,000
	hsa05014: Esclerose lateral amiotrófica	33 (7,71%)	0,025
	hsa05166: Infecção pelo vírus da leucemia de células T humanas	25 (5,84%)	0,005
	hsa04218: Senescência celular	22 (5,14%)	0,000
	hsa03013: Transporte de RNA	22 (5,14%)	0,006
	hsa04114: Meiose do oócito	22 (5,14%)	0,000
	hsa03040: Spliceossomo	21 (4,91%)	0,001
	hsa04141: Processamento de proteínas no retículo endoplasmático	21 (4,91%)	0,006
	hsa03030: Replicação do DNA	19 (4,44%)	0,000
	hsa04914: Maturação do oócito mediado por progesterona	18 (4,21%)	0,000
<i>Cyan</i>	hsa05226: Câncer gástrico	10 (7,25%)	0,000
<i>Darkgreen</i>	hsa05150: Infecção por <i>Staphylococcus aureus</i>	17 (19,32%)	0,000
	hsa05152: Tuberculose	17 (19,32%)	0,005
	hsa04145: Fagossomo	15 (17,05%)	0,000
	hsa04613: Formação de armadilha extracelular de neutrófilos	14 (15,91%)	0,000
	hsa05140: Leishmaniose	13 (14,77%)	0,000
	hsa04380: Diferenciação de osteoclastos	12 (13,64%)	0,001
	hsa05322: Lúpus eritematoso sistêmico	12 (13,64%)	0,000
	hsa04514: Moléculas de adesão celular	12 (13,64%)	0,002
	hsa04612: Processamento e apresentação de antígenos	11 (12,50%)	0,000
		hsa04640: Linhagem celular hematopoética	11 (12,50%)
<i>Darkgrey</i>	hsa04144: Endocitose	7 (14,58%)	0,031
	hsa03013: Transporte de RNA	6 (12,50%)	0,031
<i>Darkmagenta</i>	hsa05150: Infecção por <i>Staphylococcus aureus</i>	6 (18,18%)	0,000
	hsa04380: Diferenciação de osteoclastos	6 (18,18%)	0,000
	hsa05152: Tuberculose	5 (15,15%)	0,015
	hsa04145: Fagossomo	4 (12,12%)	0,035
	hsa05330: Rejeição ao aloenxerto	3 (9,09%)	0,013
	hsa04672: Rede imunológica intestinal para produção de IgA	3 (9,09%)	0,016
	hsa05320: Doença autoimune da tireoide	3 (9,09%)	0,018
	hsa05140: Leishmaniose	3 (9,09%)	0,036
		hsa04612: Processamento e apresentação de antígenos	3 (9,09%)

Módulo	Termo KEGG	Genes: n (%)	p valor ajustado
	hsa04662: Via de sinalização do receptor de células B	3 (9,09%)	0,037
<i>Darkolivegreen</i>	hsa05168: Infecção pelo vírus <i>Herpes simplex 1</i>	4 (33,33%)	0,006
	hsa04742: Transdução do sabor	3 (25%)	0,000
<i>Darkorange</i>	hsa04974: Digestão e absorção de proteínas	6 (14,63%)	0,001
<i>Darkorange2</i>	hsa05205: Proteoglicanos no câncer	5 (41,67%)	0,000
	hsa04062: Via de sinalização das quimiocinas	4 (33,33%)	0,002
	hsa04510: Adesão focal	4 (33,33%)	0,002
	hsa04810: Regulação do citoesqueleto de actina	4 (33,33%)	0,002
	hsa05163: Infecção pelo citomegalovírus humano	4 (33,33%)	0,002
	hsa05220: Leucemia mieloide crônica	3 (25%)	0,002
	hsa04012: Via de sinalização ErbB	3 (25%)	0,002
	hsa04670: Migração transendotelial de leucócitos	3 (25%)	0,004
	hsa04071: Via de sinalização de esfingolipídios	3 (25%)	0,004
	hsa04722: Via de sinalização de neurotrofina	3 (25%)	0,004
<i>Darkred</i>	hsa04141: Processamento de proteínas no retículo endoplasmático	7 (13,46%)	0,011
<i>Darkturquoise</i>	hsa05168: Infecção pelo vírus <i>Herpes simplex 1</i>	12 (21,82%)	0,008
	hsa04110: Ciclo celular	6 (10,91%)	0,008
<i>Green</i>	hsa03013: Transporte de RNA	20 (6,41%)	0,008
	hsa03050: Proteassomo	8 (2,56%)	0,045
<i>Greenyellow</i>	hsa05022: Vias de neurodegeneração - doenças múltiplas	63 (33,51%)	0,000
	hsa05012: Doença de Parkinson	58 (30,85%)	0,000
	hsa05014: Esclerose lateral amiotrófica	58 (30,85%)	0,000
	hsa05016: Doença de Huntington	57 (30,32%)	0,000
	hsa05020: Doença de Prion	54 (28,72%)	0,000
	hsa05010: Doença de Alzheimer	52 (27,66%)	0,000
	hsa04714: Termogênese	50 (26,60%)	0,000
	hsa00190: Fosforilação oxidativa	47 (25%)	0,000
	hsa04932: Doença hepática gordurosa não alcoólica	39 (20,74%)	0,000
	hsa04723: Sinalização endocanabinóide retrógrada	24 (12,77%)	0,000
<i>Grey60</i>	hsa05160: Hepatite C	12 (13,19%)	0,000
	hsa05164: <i>Influenza A</i>	12 (13,19%)	0,000
	hsa05162: Sarampo	11 (12,09%)	0,002
	hsa05171: Doença pelo Coronavírus - COVID-19	10 (10,99%)	0,000
	hsa05169: Infecção pelo vírus <i>Epstein-Barr</i>	9 (9,89%)	0,014
	hsa04621: Via de sinalização do receptor semelhante a NOD	8 (8,79%)	0,027
<i>Lightcyan</i>	hsa04120: Proteólise mediada por ubiquitina	12 (10,91%)	0,000
<i>Magenta</i>	hsa05168: Infecção pelo vírus <i>Herpes simplex 1</i>	57 (29,84%)	0,000
<i>Orange</i>	hsa00601: Biossíntese de glicosfingolipídios - séries lacto e neolacto	4 (9,30%)	0,001
<i>Salmon</i>	hsa04512: Interação ECM-receptor	9 (6,98%)	0,002
<i>Sienna3</i>	hsa05412: Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito	4 (20%)	0,000

Módulo	Termo KEGG	Genes: n (%)	p valor ajustado
	hsa04020: Via de sinalização do cálcio	4 (20%)	0,017
	hsa04972: Secreção pancreática	3 (15%)	0,014
	hsa04260: Contração do músculo cardíaco	10 (50%)	0,000
	hsa04261: Sinalização adrenérgica em cardiomiócitos	9 (45%)	0,000
	hsa05410: Cardiomiopatia hipertrófica	8 (40%)	0,000
	hsa05414: Cardiomiopatia dilatada	8 (40%)	0,000
	hsa04022: Via de sinalização cGMP-PKG	6 (30%)	0,000
	hsa04919: Via de sinalização do hormônio tireoidiano	5 (25%)	0,000
	hsa04024: Via de sinalização cAMP	5 (25%)	0,001
<i>White</i>	hsa05168: Infecção pelo vírus Herpes simples 1	10 (27,03%)	0,005

Abreviações: n = número; KEGG = Enciclopédia de Genes e Genomas de Quioto.
 Fonte: elaborada pela autora (2021).

APÊNDICE E – análise de enriquecimento do GO com genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão I

Tabela S4 – Análise de enriquecimento do GO (processos biológicos) com genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão I.

Módulo	Termos do GO: processos biológicos	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Black</i>	GO:0001667 - migração de células do tipo ameboide	138 (5,61%)	0,000
	GO:0003012 - processo de sistema muscular	135 (5,49%)	0,000
	GO:1901342 - regulação do desenvolvimento da vasculatura	128 (5,21%)	0,000
	GO:0019932 - sinalização mediada por segundo mensageiro	128 (5,21%)	0,000
	GO:0072503 - homeostase de cátions inorgânicos divalentes celulares	124 (5,04%)	0,000
	GO:0055074 - homeostase do íon cálcio	123 (5%)	0,000
	GO:0006874 - homeostase celular do íon cálcio	120 (4,88%)	0,000
	GO:0034765 - regulação do transporte transmembrana de íons	119 (4,84%)	0,000
	GO:0006631 - processo metabólico de ácidos graxos	117 (4,76%)	0,000
	GO:0034329 - conjunto de junção celular	115 (4,68%)	0,000
<i>Brown</i>	GO:0048285 - fissão de organelas	108 (14,04%)	0,000
	GO:0000280 - divisão nuclear	105 (13,65%)	0,000
	GO:0007059 - segregação cromossômica	96 (12,48%)	0,000
	GO:0140014 - divisão nuclear mitótica	83 (10,79%)	0,000
	GO:1901987 - regulação da transição de fase do ciclo celular	81 (10,53%)	0,000
	GO:1901990 - regulação da transição de fase do ciclo celular mitótico	77 (10,01%)	0,000
	GO:0006260 - Replicação do DNA	76 (9,88%)	0,000
	GO:0098813 - segregação cromossômica nuclear	75 (9,75%)	0,000
	GO:0071103 - mudança de conformação de DNA	67 (8,71%)	0,000
	GO:0045787 - regulação positiva do ciclo celular	65 (8,45%)	0,000
<i>Cyan</i>	GO:0008544 - desenvolvimento da epiderme	29 (10%)	0,000
	GO:0043588 - desenvolvimento da pele	25 (8,62%)	0,000
	GO:0034329 - conjunto de junção celular	24 (8,28%)	0,000
	GO:0050804 - modulação da transmissão sináptica química	24 (8,28%)	0,000
	GO:0099177 - regulação da sinalização trans-sináptica	24 (8,28%)	0,000
	GO:0034765 - regulação do transporte transmembrana de íons	24 (8,28%)	0,000
	GO:0050769 - regulação positiva da neurogênese	21 (7,24%)	0,002
	GO:0048732 - desenvolvimento da glândula	21 (7,24%)	0,000
	GO:0050673 - proliferação de células epiteliais	20 (6,90%)	0,002
	GO:0042391 - regulação do potencial de membrana	19 (6,55%)	0,005
<i>Darkgreen</i>	GO:0042110 - Ativação das células T	35 (24,82%)	0,000
	GO:0043312 - degranulação de neutrófilos	34 (24,11%)	0,000

Módulo	Termos do GO: processos biológicos	Genes: n (%)	p valor ajustado
	GO:0002283 - ativação de neutrófilos envolvida na resposta imune	34 (24,11%)	0,000
	GO:0007159 - adesão célula-célula de leucócitos	32 (22,70%)	0,000
	GO:0002697 - regulação do processo imunológico efetor	31 (21,99%)	0,000
	GO:0050867 - regulação positiva da ativação celular	30 (21,28%)	0,000
	GO:0022407 - regulação da adesão célula-célula	30 (21,28%)	0,000
	GO:0046651 - proliferação de linfócitos	29 (20,57%)	0,000
	GO:0032943 - proliferação de células mononucleares	29 (20,57%)	0,000
	GO:0070661 - proliferação de leucócitos	29 (20,57%)	0,000
<i>Darkolivegreen</i>	GO:0001580 - detecção de estímulos químicos envolvidos na percepção sensorial do sabor amargo	3 (12,50%)	0,002
	GO:0050913 - percepção sensorial do sabor amargo	3 (12,50%)	0,002
	GO:0050912 - detecção de estímulo químico envolvido na percepção sensorial do paladar	3 (12,50%)	0,002
	GO:0050909 - percepção sensorial do sabor	3 (12,50%)	0,006
<i>Greenyellow</i>	GO:0015980 - derivação de energia por oxidação de compostos orgânicos	48 (14,24%)	0,000
	GO:0045333 - respiração celular	46 (13,65%)	0,000
	GO:0046034 - processo metabólico do ATP	46 (13,65%)	0,000
	GO:0006119 - fosforilação oxidativa	42 (12,46%)	0,000
	GO:0022900 - cadeia de transporte de elétrons	42 (12,46%)	0,000
	GO:0022904 - cadeia de transporte de elétrons, respiração	41 (12,17%)	0,000
	GO:0042775 - transporte de elétrons acoplado da síntese de ATP mitocondrial	40 (11,87%)	0,000
	GO:0042773 - transporte de elétrons acoplado da síntese de ATP	40 (11,87%)	0,000
	GO:0033108 - montagem do complexo da cadeia respiratória mitocondrial	30 (8,90%)	0,000
	GO:0006120 - transporte mitocondrial de elétrons, NADH para ubiquinona	26 (7,72%)	0,000
<i>Turquoise</i>	GO:0001667 - migração de células do tipo ameboide	138 (5,61%)	0,000
	GO:0003012 - processo de sistema muscular	135 (5,49%)	0,000
	GO:1901342 - regulação do desenvolvimento da vasculatura	128 (5,21%)	0,000
	GO:0019932 - sinalização mediada por segundo mensageiro	128 (5,21%)	0,000
	GO:0072503 - homeostase de cátions inorgânicos divalentes celulares	124 (5,04%)	0,000
	GO:0055074 - homeostase do íon cálcio	123 (5%)	0,000
	GO:0006874 - homeostase celular do íon cálcio	120 (4,88%)	0,000
	GO:0034765 - regulação do transporte transmembrana de íons	119 (4,84%)	0,000
	GO:0006631 - processo metabólico de ácidos graxos	117 (4,76%)	0,000
	GO:0034329 - conjunto de junção celular	115 (4,68%)	0,000

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela S5 – Análise de enriquecimento do GO (funções moleculares) de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão I.

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Black</i>	GO:0042110 - ativação das células T	100 (20,92%)	0,000
	GO:0030098 - diferenciação de linfócitos	75 (15,69%)	0,000
	GO:0050863 - regulação da ativação de células T	74 (15,48%)	0,000
	GO:0007159 - adesão célula-célula de leucócitos	74 (15,48%)	0,000
	GO:0022407 - regulação da adesão célula-célula	72 (15,06%)	0,000
	GO:0002683 - regulação negativa do processo do sistema imunológico	72 (15,06%)	0,000
	GO:1903037 – regulação da adesão célula-célula de leucócitos	67 (14,02%)	0,000
	GO:0002696 - regulação positiva da ativação de leucócitos	67 (14,02%)	0,000
	GO:0050867 - regulação positiva da ativação celular	67 (14,02%)	0,000
	GO:0070661 - proliferação de leucócitos	64 (13,39%)	0,000
<i>Brown</i>	GO:0016887 - Atividade de hidrólise de ATP	53 (6,86%)	0,000
	GO:0140097 - atividade catalítica, ação no DNA	49 (6,34%)	0,000
	GO:0015631 - ligação da tubalina	48 (6,21%)	0,000
	GO:0008017 - ligação de microtúbulo	38 (4,92%)	0,000
	GO:0008094 - atividade dependente de ATP, atuando no DNA	31 (4,01%)	0,000
	GO:0004386 - atividade da helicase	29 (3,75%)	0,000
	GO:0003678 - atividade da DNA helicase	25 (3,23%)	0,000
	GO:0000287 - ligação do íon magnésio	25 (3,23%)	0,000
	GO:0042393 - ligação de histonas	24 (3,10%)	0,000
	GO:0003697 - ligação de DNA de fita simples	22 (2,85%)	0,000
<i>Cyan</i>	GO:0015267 - atividade do canal	22 (7,46%)	0,001
	GO:0022803 - atividade transportadora transmembrana passiva	22 (7,46%)	0,001
	GO:0030546 - sinalização de atividade ativadora do receptor	21 (7,12%)	0,004
	GO:0005216 - atividade do canal iônico	21 (7,12%)	0,001
	GO:0048018 - atividade do ligante do receptor	21 (7,12%)	0,004
	GO:0022836 - atividade de canal fechado	19 (6,44%)	0,001
	GO:0005261 - atividade do canal catiônico	17 (5,76%)	0,003
	GO:0005267 - atividade do canal de potássio	9 (3,05%)	0,008
	GO:0019215 - ligação de filamento intermediário	4 (1,36%)	0,005
	<i>Darkmagenta</i>	GO:0140375 - atividade do receptor imunológico	5 (10%)
GO:0004875 - atividade do receptor do complemento		3 (6%)	0,001
GO:0019865 - ligação de imunoglobulinas		3 (6%)	0,002
<i>Darkolivegreen</i>	GO:0033038 - atividade do receptor do sabor amargo	3 (12%)	0,000
	GO:0008527 - atividade do receptor de sabor	3 (12%)	0,000
	GO:0017081 - atividade do regulador do canal de cloreto	2 (8%)	0,006
<i>Darkorange</i>	GO:0004674 - proteína serina / treonina quinase	5 (18,52%)	0,007
	GO:0017048 - ligação da Rho GTPase	4 (14,81%)	0,006
	GO:0034452 - ligação da dinactina	2 (7,41%)	0,006

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
	GO:0051010 - ligação da extremidade positiva dos microtúbulos	2 (7,41%)	0,007
	GO:0017049 - ligação de GTP-Rho	2 (7,41%)	0,007
	GO:0050321 - atividade da proteína quinase tau	2 (7,41%)	0,007
<i>Darkturquoise</i>	GO:0016887 -atividade de hidrólise de ATP	17 (13,18%)	0,000
	GO:0004386 -atividade da helicase	10 (7,75%)	0,000
	GO:0043021 -ligação do complexo de ribonucleoproteína	7 (5,43%)	0,004
	GO:0008094 - atividade dependente de ATP, atuando no DNA	6 (4,65%)	0,008
<i>Greenyellow</i>	GO:0016651 - atividade oxidorreductase, atuando em NAD(P)H	23 (6,69%)	0,000
	GO:0003954 - atividade da NADH desidrogenase	22 (6,40%)	0,000
	GO:0008137 - atividade da NADH desidrogenase (ubiquinona)	22 (6,40%)	0,000
	GO:0050136 - atividade da NADH desidrogenase (quinona)	22 (6,40%)	0,000
	GO:0016655 - atividade da oxidorreductase, agindo sobre NAD (P) H, quinona ou composto semelhante como acceptor	22 (6,40%)	0,000
	GO:0009055 - atividade de transferência de elétrons	18 (5,23%)	0,000
	GO:0003735 - constituinte estrutural do ribossomo	17 (4,94%)	0,000
	GO:0015078 - atividade do transportador transmembrana de prótons	14 (4,07%)	0,000
	GO:0004129 - citocromo-c oxidase	9 (2,62%)	0,000
	GO:0015002 - atividade da oxidase terminal de cobre-heme	9 (2,62%)	0,000
<i>Lightcyan</i>	GO:0019787 - atividade da proteína transferase semelhante à ubiquitina	22 (7,53%)	0,002
	GO:0004842 - ubiquitina-proteína transferase	20 (6,85%)	0,005
<i>Turquoise</i>	GO:0003779 - ligação de actina	108 (4,30%)	0,000
	GO:0015267 - atividade do canal	97 (3,86%)	0,001
	GO:0022803 - atividade transportadora transmembrana passiva	97 (3,86%)	0,001
	GO:0030546 - sinalização de atividade ativadora do receptor	95 (3,78%)	0,005
	GO:0048018 - atividade do ligante do receptor	93 (3,71%)	0,007
	GO:0005216 - atividade do canal iônico	89 (3,55%)	0,001
	GO:0033218 - ligação de amida	87 (3,47%)	0,000
	GO:0046873 - atividade do transportador transmembrana de íons metálicos	83 (3,31%)	0,008
	GO:0042578 - atividade da hidrolase do éster fosfórico	75 (2,99%)	0,004
	GO:0042277 - ligação de peptídeo	72 (2,87%)	0,000

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela S6 – Análise de enriquecimento do GO (componentes celulares) de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão I.

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Black</i>	GO:0009897 - lado externo da membrana plasmática	72 (14,52%)	0,000
	GO:0098857 - microdomínio de membrana	29 (5,85%)	0,000
	GO:0098802 - complexo do receptor de sinalização da membrana plasmática	29 (5,85%)	0,000
	GO:0045121 - balsa lipídica de membrana	29 (5,85%)	0,000
	GO:0098589 - região da membrana	29 (5,85%)	0,000
	GO:0030667 - membrana granular secretora	22 (4,44%)	0,000
	GO:0005769 - endossomo inicial	21 (4,23%)	0,008
	GO:0030139 - vesículas endocíticas	19 (3,83%)	0,005
	GO:0030666 - membrana da vesícula endocítica	16 (3,23%)	0,000
	GO:0098562 - lado citoplasmático da membrana	15 (3,02%)	0,001
<i>Brown</i>	GO:0098687 - região cromossômica	93 (11,77%)	0,000
	GO:0005819 - fuso	75 (9,49%)	0,000
	GO:0000775 - cromossomo, região centromérica	66 (8,35%)	0,000
	GO:0000793 - condensação cromossômica	66 (8,35%)	0,000
	GO:0005874 - microtúbulo	60 (7,59%)	0,000
	GO:0000779 - região centromérica do cromossomo condensado	48 (6,08%)	0,000
	GO:0000776 - cinetócoro	47 (5,95%)	0,000
	GO:0000777 - cinetócoro do cromossomo condensado	41 (5,19%)	0,000
	GO:0005635 - envelope nuclear	41 (5,19%)	0,000
	GO:0000922 - polo do fuso	38 (4,81%)	0,000
<i>Cyan</i>	GO:0005911 - junção célula-célula	21 (6,98%)	0,005
	GO:0034702 - complexo de canal iônico	15 (4,98%)	0,008
	GO:1902495 - complexo transportador transmembrana	15 (4,98%)	0,01
	GO:1990351 - complexo transportador	15 (4,98%)	0,01
	GO:0034703 - complexo canal catiônico	12 (3,99%)	0,01
	GO:0030057 - desmossomo	5 (1,66%)	0,005
<i>Darkgreen</i>	GO:0030667 - membrana granular secretora	24 (16,33%)	0,000
	GO:0070820 - grânulo terciário	18 (12,24%)	0,000
	GO:0030139 - vesículas endocíticas	18 (12,24%)	0,000
	GO:0009897 - lado externo da membrana plasmática	16 (10,88%)	0,000
	GO:0005774 - membrana vacuolar	15 (10,20%)	0,000
	GO:0005765 - membrana lisossomal	14 (9,52%)	0,000
	GO:0098852 - membrana de vacúolo lítico	14 (9,52%)	0,000
	GO:0070821 - membrana grânulo terciário	13 (8,84%)	0,000
	GO:0042581 - grânulo específico	12 (8,16%)	0,000
	GO:0045335 - vesícula fagocítica	11 (7,48%)	0,000
<i>Darkturquoise</i>	GO:0018995 - componente celular hospedeiro	6 (4,69%)	0,001
	GO:0043657 - célula hospedeira	6 (4,69%)	0,001
	GO:0043596 - bifurcação da replicação nuclear	4 (3,13%)	0,01

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
	GO:0031414 - Complexo de proteína acetiltransferase N-terminal	3 (2,34%)	0,003
<i>Green</i>	GO:1905368 - complexo da peptidase	13 (2,14%)	0,003
<i>Greenyellow</i>	GO:0005743 - membrana mitocondrial interna	83 (23,85%)	0,000
	GO:0098798 - complexo contendo proteína mitocondrial	58 (16,67%)	0,000
	GO:0070469 - respirassoma	38 (10,92%)	0,000
	GO:0005759 - matriz mitocondrial	38 (10,92%)	0,000
	GO:0098800 - complexo proteico da membrana mitocondrial interna	36 (10,34%)	0,000
	GO:0098803 - complexo da cadeia respiratória	35 (10,06%)	0,000
	GO:0005746 - respirassoma mitocondrial	34 (9,77%)	0,000
	GO:1990204 - complexo oxirredutase	31 (8,91%)	0,000
	GO:0005747 - complexo I da cadeia respiratória mitocondrial	24 (6,90%)	0,000
	GO:0030964 - Complexo NADH desidrogenase	24 (6,90%)	0,000
<i>Lightcyan</i>	GO:0000151 - complexo ubiquitina ligase	18 (6,27%)	0,000
<i>Salmon</i>	GO:0062023 - matriz extracelular contendo colágeno	18 (6,29%)	0,010
	GO:0005604 - membrana basal	10 (3,5%)	0,001
<i>Turquoise</i>	GO:0005911 - junção célula-célula	125 (4,88%)	0,000
	GO:0062023 - matriz extracelular contendo colágeno	124 (4,84%)	0,000
	GO:0030055 - junção célula-substrato	105 (4,10%)	0,000
	GO:0005925 - adesão focal	103 (4,02%)	0,000
	GO:0031252 - borda dianteira da célula	95 (3,71%)	0,000
	GO:0097060 - membrana sináptica	88 (3,43%)	0,000
	GO:0098589 - região da membrana	86 (3,36%)	0,000
	GO:0045121 - balsa lipídica de membrana	85 (3,32%)	0,000
	GO:0098857 - microdomínio de membrana	85 (3,32%)	0,000
	GO:0045177 - parte apical da célula	85 (3,32%)	0,001

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

APÊNDICE F – análise de enriquecimento do GO com genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão II

Tabela S7 – Análise de enriquecimento do GO (processos biológicos) de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão II.

Módulo	Termos do GO: processos biológicos	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Blue</i>	GO:0003012 - processo de sistema muscular	57 (11,24%)	0,000
	GO:0006936 - contração muscular	49 (9,66%)	0,000
	GO:0019216 - regulação do processo metabólico de lipídios	40 (7,89%)	0,000
	GO:0014706 - desenvolvimento do tecido muscular esquelético	35 (6,90%)	0,000
	GO:0007517 - desenvolvimento de órgão muscular	34 (6,71%)	0,000
	GO:0090257 – regulação do processo de sistema muscular	29 (5,72%)	0,000
	GO:0042445 - processo metabólico hormonal	27 (5,33%)	0,000
	GO:0006937 – regulação da contração muscular	24 (4,73%)	0,000
	GO:0055001 - desenvolvimento de células musculares	24 (4,73%)	0,000
	GO:0070252 - contração celular mediada por actina	20 (3,94%)	0,000
<i>Brown</i>	GO:0042391 - regulação do potencial de membrana	13 (13%)	0,000
	GO:0006936 - contração muscular	11 (11%)	0,001
	GO:0003012 - processo de sistema muscular	11 (11%)	0,005
	GO:0003002 - regionalização	10 (10%)	0,002
	GO:1904062 - regulação do transporte transmembrana de cátions	10 (10%)	0,002
	GO:0001508 - potencial de ação	7 (7%)	0,002
	GO:1902305 - regulação do transporte transmembrana de íons de sódio	6 (6%)	0,000
	GO:0002028 - regulação do transporte de íons de sódio	6 (6%)	0,002
	GO:2000649 - regulação da atividade do transportador transmembrana de íons de sódio	5 (5%)	0,002
	GO:0010765 - regulação positiva do transporte de íon sódio	4 (4%)	0,005
<i>Green</i>	GO:0006936 - contração muscular	11 (17,19%)	0,000
	GO:0003012 - processo de sistema muscular	11 (17,19%)	0,000
	GO:0031589 - adesão célula-substrato	8 (12,5%)	0,007
	GO:0006939 - contração do músculo liso	7 (10,94%)	0,000
	GO:0051962 - regulação positiva do desenvolvimento do sistema nervoso	7 (10,94%)	0,007
	GO:1904064 - regulação positiva do transporte transmembrana de cátions	6 (9,38%)	0,002
	GO:0010811 - regulação positiva da adesão célula-substrato	5 (7,81%)	0,009
	GO:0006940 - regulação da contração do músculo liso	4 (6,25%)	0,009
	GO:0031581 - conjunto hemidesmossomo	3 (4,69%)	0,002
	GO:0016338 - adesão célula-célula independente de cálcio via moléculas de adesão celular da membrana plasmática	3 (4,69%)	0,009
	<i>Turquoise</i>	GO:0000280 - divisão nuclear	73 (9,08%)
GO:0048285 - fissão de organelas		73 (9,08%)	0,000
GO:0007059 - segregação cromossômica		61 (7,59%)	0,000

Módulo	Termos do GO: processos biológicos	Genes: n (%)	p valor ajustado
	GO:0140014 - divisão nuclear mitótica	56 (6,97%)	0,000
	GO:0098813 - segregação de cromossomos nucleares	53 (6,59%)	0,000
	GO:0000819 - segregação das cromátides-irmãs	46 (5,72%)	0,000
	GO:0000070 - segregação cromátides-irmãs mitótica	42 (5,22%)	0,000
	GO:0051321 - ciclo célula meiótico	42 (5,22%)	0,000
	GO:1903046 - processo do ciclo celular meiótico	36 (4,48%)	0,000
	GO:0051983 - regulação da segregação cromossômica	25 (3,11%)	0,000
<i>Yellow</i>	GO:0070268 - cornificação	6 (9,52%)	0,000

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela S8 - Análise de enriquecimento do GO (funções moleculares) de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão II.

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Blue</i>	GO:0003779 - ligação de actina	35 (6,85%)	0,000
	GO:0033218 - ligação de amida	32 (6,26%)	0,000
	GO:0042277 - ligação de peptídeo	29 (5,68%)	0,000
	GO:0008201 - ligação de heparina	16 (3,13%)	0,000
	GO:0042562 - ligação de hormônio	13 (2,54%)	0,000
	GO:0017046 - ligação de hormônio peptídico	10(1,96%)	0,000
	GO:0004745 - atividade de retinol desidrogenase	7(1,37%)	0,000
	GO:0031720 - ligação de haptoglobina	6(1,17%)	0,000
	GO:0005344 - atividade transportadora de oxigênio	6(1,17%)	0,000
	GO:0018455 - atividade da álcool desidrogenase [NAD (P) +]	5(0,98%)	0,000
<i>Brown</i>	GO:0015267 - atividade do canal	11 (10,48%)	0,003
	GO:0022803 - atividade transportadora transmembrana passiva	11 (10,48%)	0,003
	GO:0022836 - atividade de canal fechado	10 (9,52%)	0,002
	GO:0005216 - atividade do canal iônico	10 (9,52%)	0,006
	GO:0005272 - atividade do canal de sódio	5 (4,76%)	0,001
	GO:0005248 - atividade do canal de sódio dependente de voltagem	4 (3,81%)	0,001
	GO:0008307 - constituinte estrutural do músculo	4 (3,81%)	0,003
	GO:0031432 - ligação de titina	3 (2,86%)	0,003
<i>Turquoise</i>	GO:0046873 - atividade do transportador transmembrana de íons metálicos	39 (4,86%)	0,001
	GO:0008017 - ligação de microtúbulo	33 (4,11%)	0,000
	GO:0005539 - ligação de glicosaminoglicano	24 (2,99%)	0,004
	GO:0005201 - constituinte estrutural da matriz extracelular	22 (2,74%)	0,000
	GO:0003774 - atividade motora do citoesqueleto	19 (2,37%)	0,000
	GO:0022843 - atividade do canal catiônico controlado por voltagem	18 (2,24%)	0,003
	GO:0005179 - atividade hormonal	17 (2,12%)	0,002
	GO:0003777 - atividade motora dos microtúbulos	15 (1,87%)	0,000

Módulo	Termos do GO: funções moleculares	Genes: n (%)	p valor ajustado
	GO:0004869 - atividade do inibidor da endopeptidase do tipo cisteína	12 (1,49%)	0,000
	GO:0008574 - atividade motora dos microtúbulos direcionados à extremidade positiva	6 (0,75%)	0,004
<i>Yellow</i>	GO:0004866 - atividade do inibidor de endopeptidase	5 (17,24%)	0,000
	GO:0030414 - atividade do inibidor de peptidase	5 (17,24%)	0,000
	GO:0061135 - atividade reguladora da endopeptidase	5 (17,24%)	0,000
	GO:0061134 - atividade reguladora de peptidase	5 (17,24%)	0,000
	GO:0004857 - atividade do inibidor de enzima	5 (17,24%)	0,002
	GO:0022824 - atividade do canal de íon controlado pelo transmissor	3 (10,34%)	0,001
	GO:0022835 - atividade de canal controlada por transmissor	3 (10,34%)	0,001
	GO:0005230 - atividade extracelular do canal de íons bloqueado por ligante	3 (10,34%)	0,002
	GO:0022848 - atividade de canal seletivo de cátions dependente de acetilcolina	2 (6,90%)	0,002
	GO:0004867 - atividade inibidora da endopeptidase do tipo serina	4 (13,79%)	0,000

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela S9 – Análise de enriquecimento do GO (componentes celulares) de genes nos módulos gerados pela análise de coexpressão II.

Módulo	Termos do GO: componentes celulares	Genes: n (%)	p valor ajustado
<i>Blue</i>	GO:0030016 - miofibrila	41 (7,71%)	0,000
	GO:0043292 - fibra contrátil	41 (7,71%)	0,000
	GO:0030017 - sarcômero	40 (7,52%)	0,000
	GO:0062023 - matriz extracelular contendo colágeno	37 (6,95%)	0,000
	GO:0031674 – Banda I	25 (4,7%)	0,000
	GO:0030018 - Disco Z	23 (4,32%)	0,000
	GO:0042383 - sarcolema	21 (3,95%)	0,000
	GO:0031672 – Banda A	11 (2,07%)	0,000
	GO:0031430 – Banda M	8 (1,5%)	0,000
	GO:0031838 - complexo haptoglobina-hemoglobina	6 (1,13%)	0,000
<i>Brown</i>	GO:0030016 - miofibrila	12 (11,11%)	0,000
	GO:0043292 - fibra contrátil	12 (11,11%)	0,000
	GO:0030017 - sarcômero	11 (10,19%)	0,000
	GO:0030018 - Disco Z	8 (7,41%)	0,000
	GO:0031674 - Banda I	8 (7,41%)	0,000
	GO:0042383 - sarcolema	8 (7,41%)	0,000
	GO:0001518 - complexo do canal de sódio dependente de voltagem	4 (3,7%)	0,000
	GO:0034706 - complexo do canal de sódio	4 (3,7%)	0,000
<i>Green</i>	GO:0005911 - junção célula-célula	9 (13%)	0,000
<i>Turquoise</i>	GO:0098687 - região cromossômica	43 (5,13%)	0,000
	GO:0005819 - fuso	43 (5,13%)	0,000
	GO:0000775 - cromossomo, região centromérica	36 (4,29%)	0,000
	GO:0000793 - condensação cromossômica	35 (4,17%)	0,000

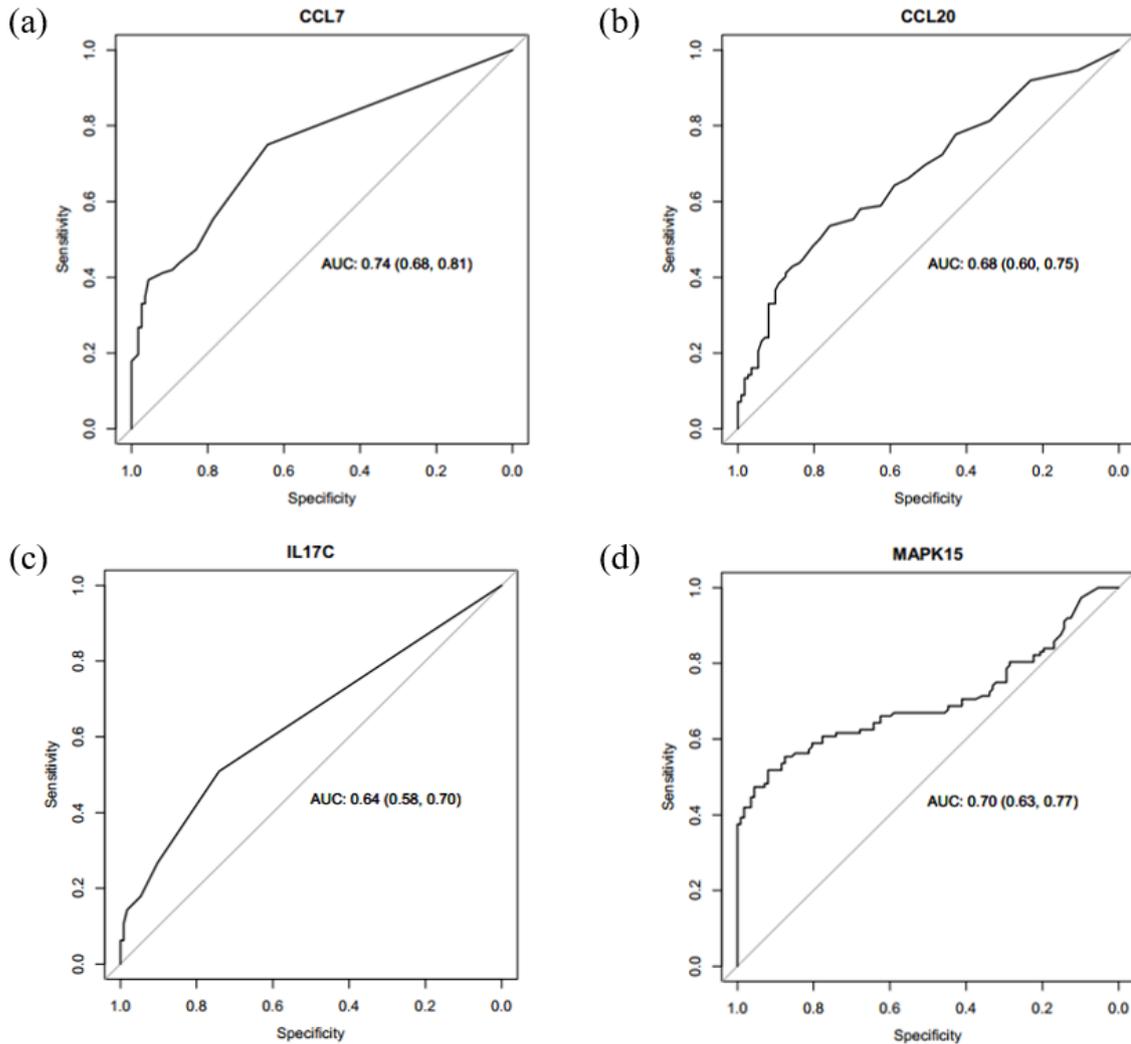
Módulo	Termos do GO: componentes celulares	Genes: n (%)	p valor ajustado
	GO:0000776 - cinetocoro	28 (3,34%)	0,000
	GO:0000779 – cromossomo condensado, região centromérica	26 (3,10%)	0,000
	GO:0072686 - fuso mitótico	26 (3,10%)	0,000
	GO:0000777 – cinetocoro do cromossomo condensado	24 (2,86%)	0,000
	GO:0000940 – cinetocoro externo	8 (0,95%)	0,000
	GO:0000778 – cinetocoro do cromossomo nuclear condensado	8 (0,95%)	0,000
<i>Yellow</i>	Nenhum termo enriquecido	-	-

Abreviações: n = número; GO = *Gene Ontology*.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

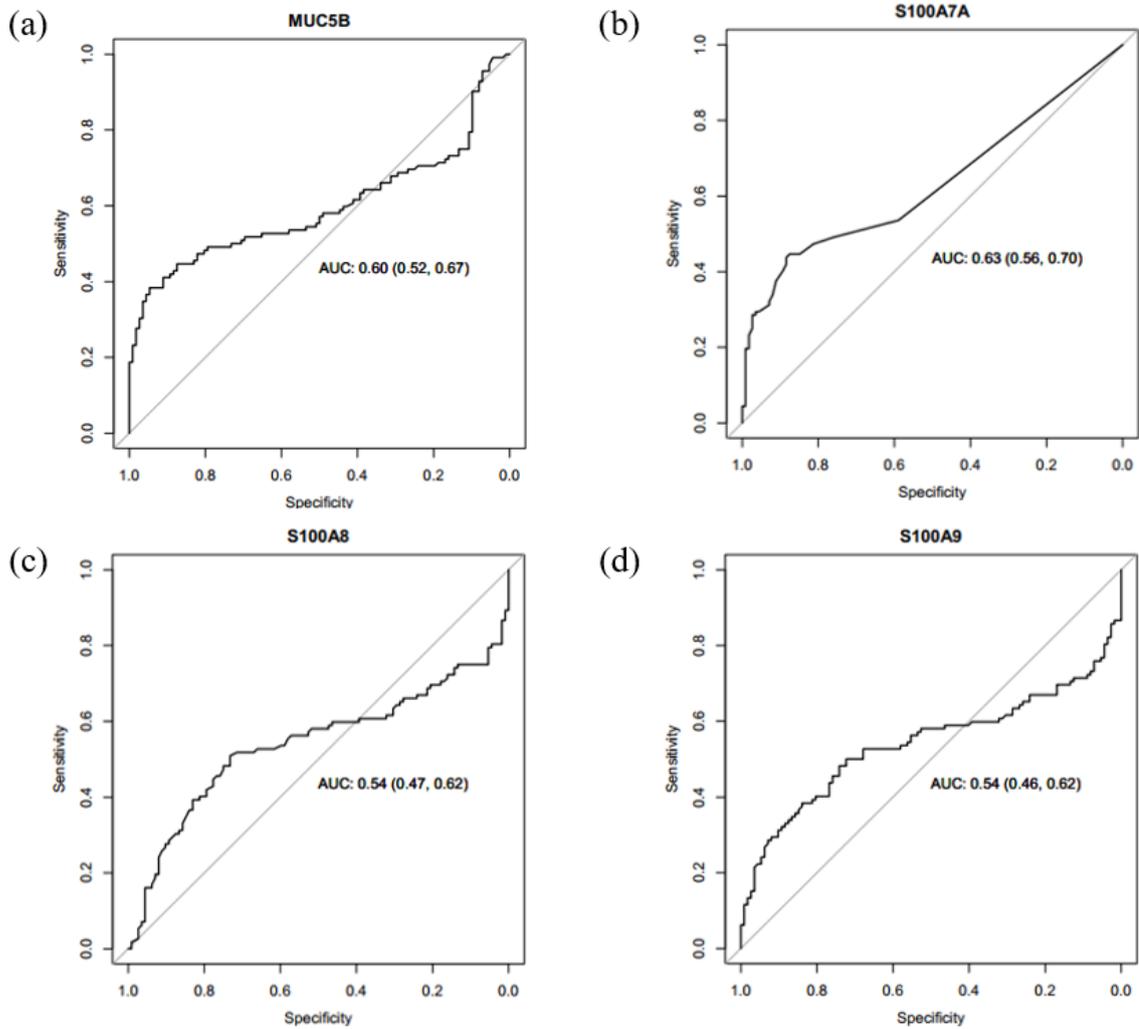
APÊNDICE G – ANÁLISE DE CURVAS ROC

Figura S1 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *CCL7*. (b) Curva ROC do gene *CCL20*. (c) Curva ROC do gene *IL17*. (d) Curva ROC do gene *MAPK15*.



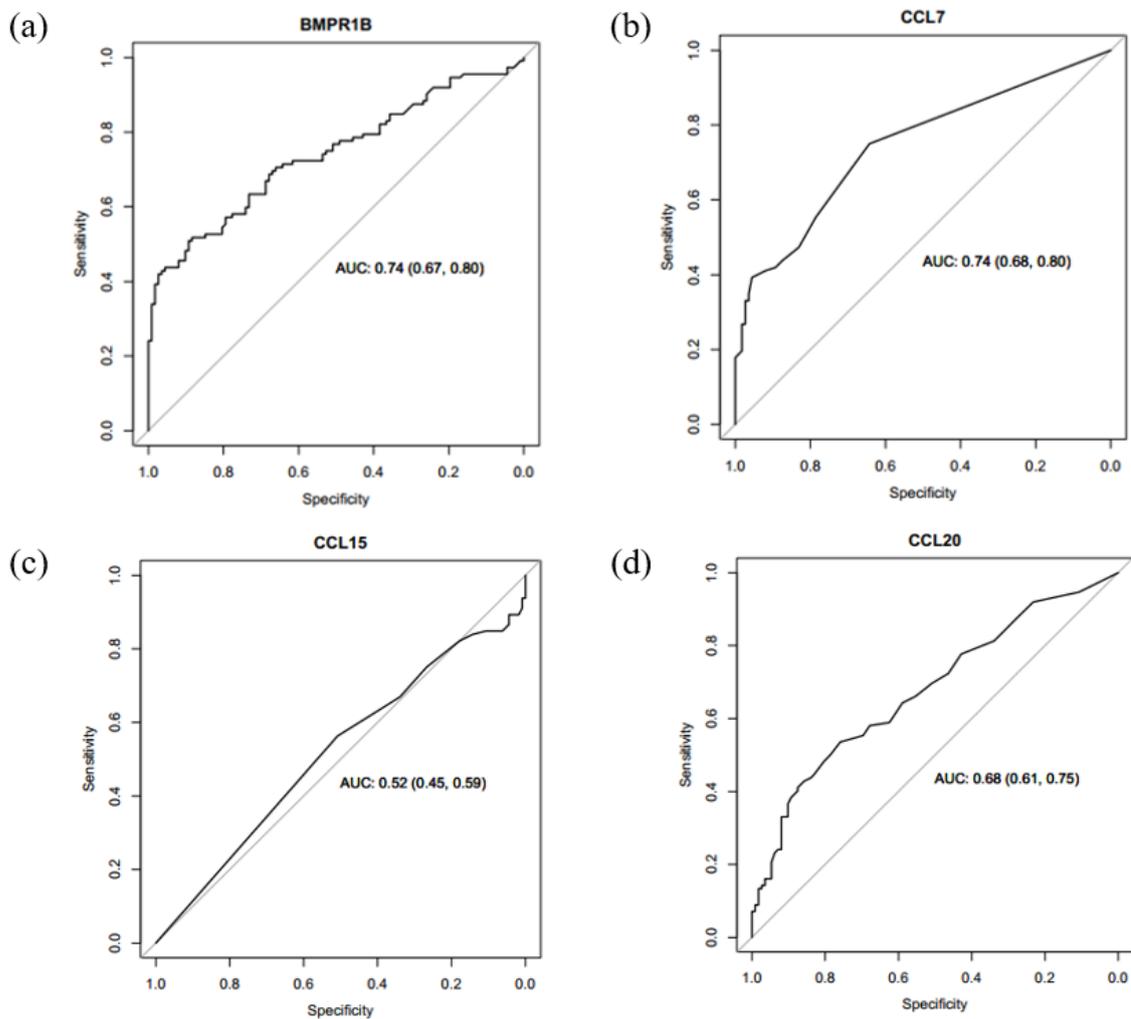
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura S2 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização da IL-17 destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *MUC5B*. (b) Curva ROC do gene *S100A7A*. (c) Curva ROC do gene *S100A8*. (d) Curva ROC do gene *S100A9*.



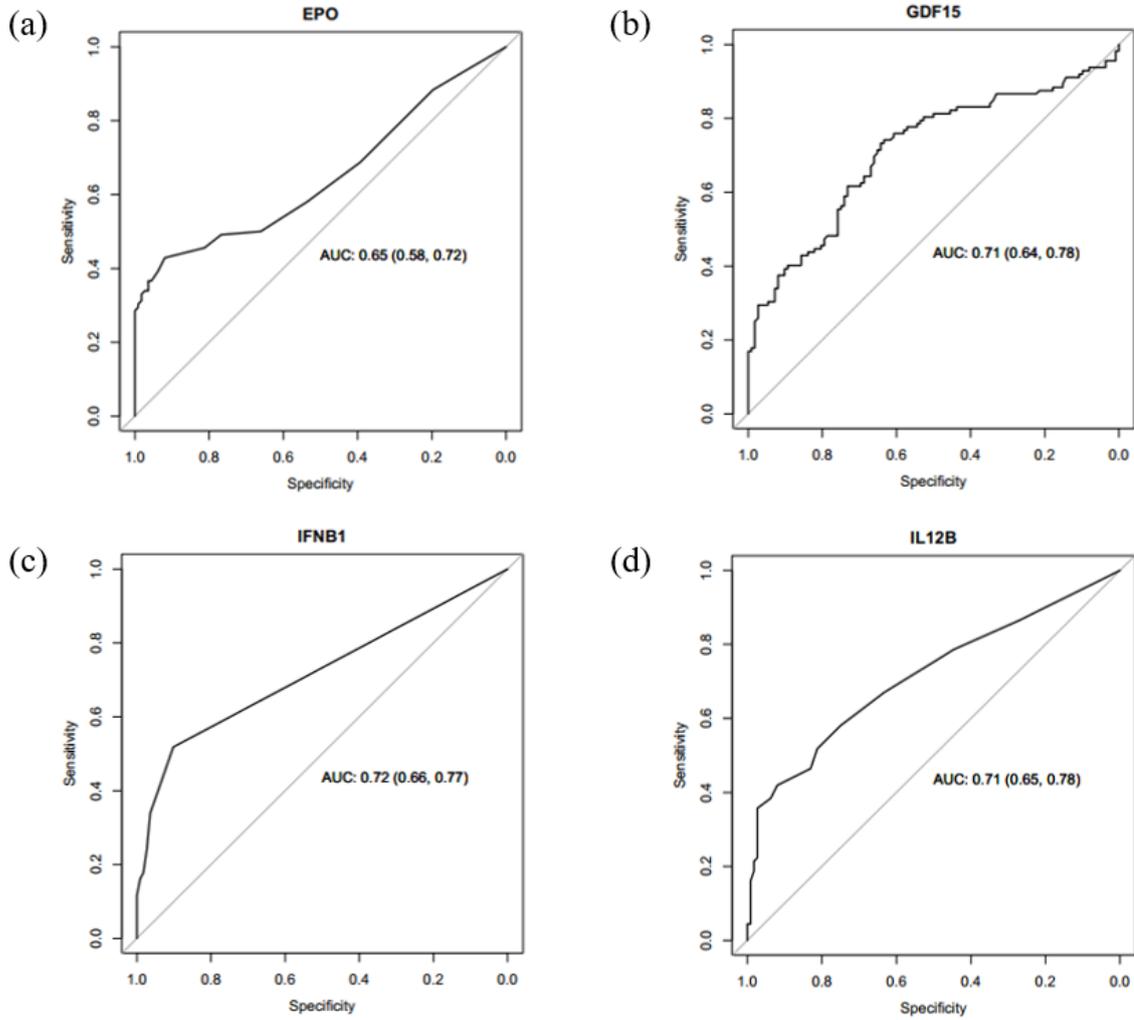
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura S3 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *BMPR1B*. (b) Curva ROC do gene *CCL7*. (c) Curva ROC do gene *CCL15*. (d) Curva ROC do gene *CCL20*.



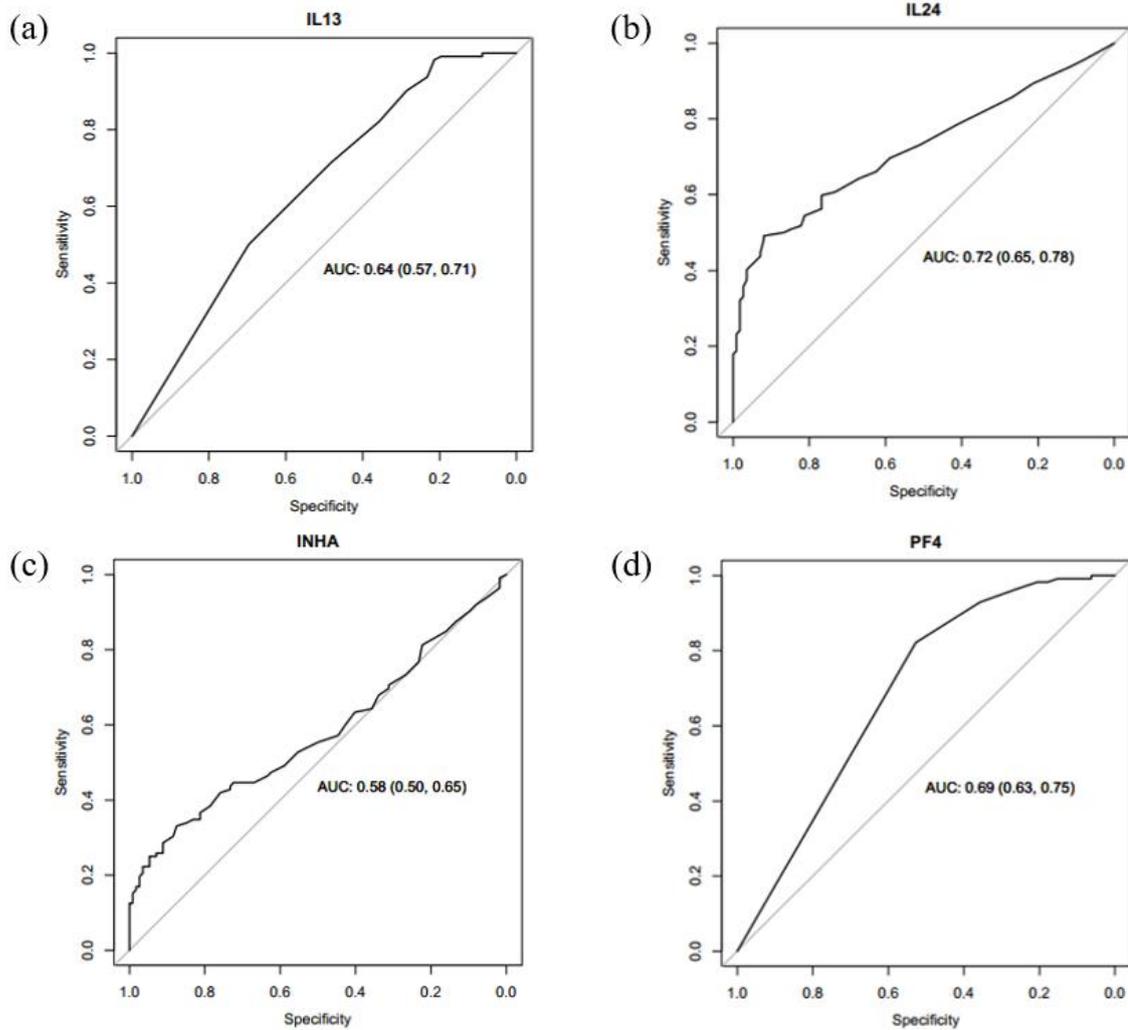
Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura S4 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *EPO*. (b) Curva ROC do gene *GDF15*. (c) Curva ROC do gene *IFNB1*. (d) Curva ROC do gene *IL12B*.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

Figura S5 – Curva ROC de 4 genes enriquecidos na via de sinalização citocina-receptor de citocina destacando-se o valor AUC. No eixo y de todos os gráficos, a sensibilidade (fração dos verdadeiros positivos). No eixo x de todos os gráficos, a especificidade (fração dos falsos negativos). (a) Curva ROC do gene *IL13*. (b) Curva ROC do gene *IL24*. (c) Curva ROC do gene *INHA*. (d) Curva ROC do gene *PF4*.



Fonte: Elaborada pela autora (2021).

APÊNDICE H – análise de associação entre os genótipos e a suscetibilidade ao câncer de mama utilizando modelos genéticos

Tabela S10 - Frequências genotípicas e alélicas e análises de Qui-Quadrado entre câncer de mama e variantes rs1800693 do gene *TNFRSF1A* e rs4649203 do gene *IFNLRI*

Modelo genético	Polimorfismo	Frequência (%)		p-valor
		Controles (n=270)	Casos (n=226)	
<i>TNFRSF1A</i> (rs1800693) T>C				
Alelos	C	242	204	0,920
	T	298	248	
Codominante	CC	27	11	0,014
	CT	188	182	
	TT	55	33	
Recessivo	CC versus (TT + CT)	27 243	11 215	0,033
Dominante	TT versus (CC + CT)	55 215	33 193	0,096
<i>IFNLRI</i> (rs4649203) G>A				
Alelos	A	296	228	0,092
	G	252	240	
Codominante	AA	59	32	0,065
	AG	178	164	
	GG	37	38	
Recessivo	AA versus (AG + GG)	59 215	32 202	0,021
Dominante	GG versus (AG + AA)	37 237	38 196	0,385

Abreviações: n = número. Os valores destacados em negrito indicam a significância estatística de $P < 0,05$.
Fonte: elaborada pela autora (2021).

APÊNDICE I – análise de associação entre as variantes dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* (genótipos e alelos) e os fatores clínicos em pacientes com câncer de mama

Tabela S11 - Associação entre as variantes dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* (genótipos e alelos) e o *status* do receptor de estrogênio em pacientes com câncer de mama.

Genótipos	Receptor de estrogênio positivo	RP (95% IC)	p valor
Idade		0,99 (0,99 - 1,00)	0,31
Hábito tabagista	Sim (n=56)	0,99 (0,85 - 1,18)	0,99
	Não (n=76)	1	
IMC		1,00 (0,99 - 1,01)	0,42
<i>TNFRSF1A</i> rs1800693	CC (n= 8)	1,10 (0,67 - 1,80)	0,704
	CT (n= 127)	1,13 (0,84 - 1,53)	0,420
	TT (n= 22)	1	
	C (143)	1,03 (0,91 - 1,16)	0,67
	T (171)	1	
<i>IFNLRI</i> rs4649203	AA (n= 26)	0,77 (0,54 - 1,09)	0,145
	AG (n= 110)	1,00 (0,82 - 1,22)	1,000
	GG (n= 30)	1	
	A (162)	0,93 (0,82 - 1,04)	0,20
	G (170)	1	

Abreviações: n = número; RP = razão de prevalência; IC = intervalo de confiança; IMC = índice de massa corporal.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela S12 - Associação entre as variantes dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* (genótipos e alelos) e o *status* do receptor c-erbB-2 em pacientes com câncer de mama.

Gene	Receptor c-erbB-2 positivo	RP (95% IC)	p -valor
Idade		1,00 (0,98 - 1,03)	0,59
Hábito tabagista	Sim (n=10)	0,71 (0,36 - 1,43)	0,34
	Não (n=20)	1	
IMC		0,94 (0,87 - 1,01)	0,10
<i>TNFRSF1A</i> rs1800693	CC (n= 9)	0,41 (0,06 - 2,92)	0,37
	CT (n= 112)	0,69 (0,31 - 1,50)	0,35
	TT (n= 22)	1	
	C (130)	0,83 (0,51 - 1,35)	0,46
	T (156)	1	
<i>IFNLRI</i> rs4649203	AA (n= 23)	1,90 (0,64 - 5,66)	0,25
	AG (n= 105)	0,95 (0,35 - 2,60)	0,92
	GG (n= 25)	1	
	A (151)	1,28 (0,79 - 2,09)	0,32
	G (155)	1	

Abreviações: n = número; RP = razão de prevalência; IC = intervalo de confiança; IMC = índice de massa corporal.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela S13 - Associação entre as variantes dos genes *TNFRSF1A* e *IFNLRI* (genótipos e alelos) e o *status* linfonodal em pacientes com câncer de mama.

Gene	Envolvimento linfonodal positivo	RP (95% IC)	p valor
Idade		0,99 (0,99 - 1,00)	0,72
Hábito tabagista	Sim (n=21)	1,02 (0,79 - 1,31)	0,85
	Não (n=43)	1	
IMC		0,95 (0,92 - 0,98)	0,001
<i>TNFRSF1A</i> rs1800693	CC (n= 8)	0,94 (0,50 - 1,76)	0,84
	CT (n= 88)	0,72 (0,48 - 1,06)	0,096
	TT (n= 18)	1	
	C (104)	0,94 (0,73 - 1,21)	0,63
	T (124)	1	
<i>IFNLRI</i> rs4649203	AA (n= 16)	1,37 (0,74 - 2,53)	0,31
	AG (n= 90)	0,94 (0,53 - 1,67)	0,82
	GG (n= 11)	1	
	A (122)	1,11 (0,88 - 1,40)	0,39
	G (112)	1	

Abreviações: n = número; RP = razão de prevalência; IC = intervalo de confiança; IMC = índice de massa corporal.

Fonte: elaborada pela autora (2021).

ANEXO A – Questionário indivíduos-controles

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética/CCB
Laboratório de Polimorfismos Genéticos

Dados Pessoais: Data: __/__/__

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Telefone Residencial: _____

Telefone Trabalho: _____ Celular: _____

Idade: _____ Sexo: () M () F

Data de nascimento: _____

Estado Civil: _____ Tipo de sangue: _____

Profissão: _____ Aposentado: () Sim () Não

Escolaridade:

() analfabeto () 1º grau incompleto () 1º grau completo

() 2º grau incompleto () 2º grau completo () superior incompleto

() superior completo () pós graduação

Peso: _____ Altura: _____

Cidade onde nasceu: _____

Ascendência: Materna _____ Paterna _____

Etnia: () Euro descendente () Afro descendente

() Asiático descendente () Indígena descendente

Cor da pele: () negra () mulata () amarela () branca

Observações: _____

Dados Familiares:

Nome do pai: _____

Cidade onde nasceu: _____

Descendência do pai: Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Nome da mãe: _____

Cidade onde nasceu: _____

Descendência da mãe:

Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Possui Irmãos: () Sim () Não Quantos: _____

Possui filhos: () Sim () Não Quantos: _____

Ingere **BEBIDA ALCOÓLICA**? () Sim () Não

Frequência: () Todos os dias () Fim de semana () Esporadicamente (Festas)

Quantidade (copos 200 mL): _____

Que tipo de bebida alcoólica ingere mais frequentemente?

() Cerveja () Vinho () Cachaça () Outro _____

Que tipo de bebida alcoólica nunca ingere?

() Cerveja () Vinho () Cachaça () Outro _____

Pratica **EXERCÍCIOS FÍSICOS**? () Sim () Não

Tipo: _____

Quantidade: () menos de 30 min () 30 min () 1h () mais de 1 h

Frequência: () 1x semana () 2-3x semana () 4-6x semana

() Todo os dias () Menos de 1x semana

Você **FUMA**? () Sim () Não Você já **FUMOU**? () Sim () Não

Tipo: () Cigarro () Charuto () Cachimbo () Outro _____

Quantidade e Frequência (nº de cigarros por dia): _____

Tempo que fuma ou fumou: _____

Há quanto tempo parou: _____

Histórico Hormonal e Reprodutivo

Idade da MENARCA: _____

MENOPAUSA: () Sim () Não Idade: _____

HISTERECTOMIA: () Sim () Não

PARIDADE:

Nº de gestações _____ Idade da 1ª gestação _____

Nº de filhos () nulípara N: _____

Abortos () P () E N: _____

Amamentou: () Sim () Não Tempo total (meses): _____

TRAT. HORMONAL:

Utiliza AC? () Sim () Não Já utilizou AC? () Sim () Não

Nome e tipo (oral, adesivo, injetável) do AC: _____

Tempo que usa ou usou AC: _____

Há quanto tempo parou? _____

Faz TRH? () Sim () Não Já fez TRH? () Sim () Não

Nome do Hormônio: _____

Tempo que faz ou fez TRH: _____

Há quanto tempo parou? _____

() Outros hormônios _____ Tempo total: _____

Observações _____

Histórico Médico

Caso de **CÂNCER** pessoal? () Sim () Não

Tipo: _____

Casos de **CÂNCER DE MAMA** na família? () Sim () Não

Grau de Parentesco: () filha () irmã () mãe () avó

() tia materna 1º grau () tia paterna 1º grau

() prima materna 1º grau () prima paterna 1º grau

() Outros _____

Casos de **CÂNCER** de outro tipo na família? () Sim () Não

Grau de Parentesco e tipo: _____

Caso de **TUMOR BENIGNO** pessoal? () Sim () Não

Local: _____

Caso de **DOENÇA AUTOIMUNE** pessoal? () Sim () Não

Qual? _____

Tempo de diagnóstico: _____

Casos de **DOENÇA AUTOIMUNE** na família? () Sim () Não

Grau de Parentesco e tipo: _____

Você tem alguma **DOENÇA CARDIOVASCULAR**? () Sim () Não

Qual? (s) _____

HIPERTENSÃO ARTERIAL: () Sim () Não

HIPERCOLESTEROLEMIA: () Sim () Não

OSTEOPOROSE: () Sim () Não

DOENÇA REUMÁTICA: () Sim () Não

DIABETES: () Sim () Não

ASMA: () Sim () Não

HIV: () Sim () Não () Nunca fez exame

HEPATITE: () Sim () Não () Nunca fez exame

DENGUE: () Sim () Não

TUBERCULOSE: () Sim () Não

DISTÚRBIO RENAL: () Sim () Não

DISTÚRBIO PULMONAR: () Sim () Não

DISTÚRBIO HEPÁTICO: () Sim () Não

Casos de **DOENÇA DE ALZHEIMER** na família: () Sim () Não

Grau de parentesco: _____

Casos de **DOENÇA DE PARKINSON** na família: () Sim () Não

Grau de parentesco: _____

OUTRAS DOENÇAS? _____

Alérgico a algum medicamento? _____

Alérgico a algum alimento? _____

Teve **DEPRESSÃO**? _____

Utilizou ou utiliza alguma medicação por longo tempo? () Sim () Não

Nome do medicamento (dosagem e frequência) e tempo que utilizou:

ANEXO B – Questionário de indivíduos com câncer de mama

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – BEG
Laboratório de Polimorfismos Genéticos

IDENTIFICAÇÃO

Data: __/__/__ **Coleta:** (). SANGUE (). TUMOR

ENTREVISTADOR _____ MÉDICO

RESPONSÁVEL

HOSPITAL _____

Dados Pessoais:

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Telefone Residencial: _____

Telefone Trabalho: _____ Celular: _____

Idade: _____ Sexo: (). M (). F

Data de nascimento: _____

Estado Civil: _____ Tipo de sangue: _____

Profissão: _____ Aposentado: (). Sim (). Não

Escaridade: (). analfabeto (). 1º grau incompleto

(). 1º grau completo (). 2º grau incompleto

(). 2º grau completo (). superior incompleto

(). superior completo (). pós graduação

Peso: _____ Altura: _____

Cidade onde nasceu: _____

Ascendência: Materna _____ Paterna _____

Etnia: (). Euro descendente (). Afro descendente

(). Asiático descendente (). Indígena descendente

Cor da pele: (). negra (). mulata (). amarela (). branca

Observação: _____

Dados Familiares:

Nome do pai: _____

Cidade onde nasceu: _____

Ascendência do pai:

Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Nome da mãe: _____

Cidade onde nasceu: _____

Descendência da mãe:

Materna _____ Paterna _____

Profissão: _____

Possui Irmãos: (). Sim (). Não Quantos: _____

Possui filhos: (). Sim (). Não Quantos: _____

Ingere **BEBIDA ALCOÓLICA**? (). Sim (). Não

Frequência: (). Todos os dias (). Fim de semana (). Esporadicamente (Festas).

Quantidade (copos 200 mL): _____

Que tipo de bebida alcoólica ingere mais frequentemente?

(). Cerveja (). Vinho (). Cachaça (). Outro _____

Que tipo de bebida alcoólica nunca ingere?

(). Cerveja (). Vinho (). Cachaça (). Outro _____

Pratica **EXERCÍCIOS FÍSICOS**? (). Sim (). Não

Tipo: _____

Quantidade: (). menos de 30 min (). 30 min (). 1h (). mais de 1 h

Frequência: (). 1x semana (). 2-3x semana (). 4-6x semana

(). Todo os dias (). Menos de 1x semana

Você **FUMA**? (). Sim (). Não Você já **FUMOU**? (). Sim (). Não

Tipo: (). Cigarro (). Charuto (). Cachimbo (). Outro _____

Quantidade e Frequência (nº de cigarros por dia): _____

Tempo que fuma ou fumou: _____

Há quanto tempo parou: _____

Histórico Hormonal e Reprodutivo

Idade da MENARCA: _____

MENOPAUSA: (). Sim (). Não Idade: _____

HISTERECTOMIA: (). Sim (). Não

PARIDADE:

Nº de gestações _____ Idade da 1ª estação _____

Nº de filhos (). nulípara N: _____

Abortos (). P (). E N: _____

Amamentou: (). Sim (). Não Tempo total (meses): _____

TRAT. HORMONAL:

Utiliza AC? (). Sim (). Não Já utilizou AC? (). Sim (). Não

Nome e tipo (oral, adesivo, injetável). do AC: _____

Tempo que usa ou usou AC: _____

Há quanto tempo parou? _____

Faz TRH? (). Sim (). Não Já fez TRH? (). Sim (). Não

Nome do Hormônio: _____

Tempo que faz ou fez TRH: _____

Há quanto tempo parou? _____

(). Outros hormônios _____ Tempo total: _____

Observações: _____

Histórico Médico

Casos de **CÂNCER DE MAMA** na família? ().Sim (). Não

Grau de Parentesco: (). filha (). irmã (). mãe (). avó

(). tia materna 1º grau (). tia paterna 1º grau

(). prima materna 1º grau (). prima paterna 1º grau

(). Outros _____

Casos de **CÂNCER** de outro tipo na família ou pessoal? ().Sim (). Não

Grau de Parentesco e tipo:

Caso de **TUMOR BENIGNO DE MAMA** pessoal? ().Sim (). Não

Classificação: _____

HISTÓRICO do câncer de mama (versão PACIENTE):

HISTÓRICO do câncer de mama (PRONTUÁRIO):

CLASSIFICAÇÃO do tumor (biópsia após cirurgia):

(). Carcinoma ductal (). Invasivo

(). Carcinoma lobular (). “*in situ*”

().Microcalcificações (). Doença de Paget

(). Outro _____

Resultado imunohistoquímica:

Você tem alguma DOENÇA CARDIOVASCULAR?: ().Sim (). Não

Qual? (s). _____

HIPERTENSÃO ARTERIAL: ().Sim (). Não

HIPERCOLESTEROLEMIA: ().Sim (). Não

OSTEOPOROSE: ().Sim (). Não

DOENÇA REUMÁTICA: ().Sim (). Não

DIABETES: ().Sim (). Não

ASMA: ().Sim (). Não

HIV: ().Sim (). Não (). Nunca fez exame

HEPATITE: ().Sim (). Não (). Nunca fez exame

DENGUE: ().Sim (). Não

TUBERCULOSE: ().Sim (). Não

DISTÚRBO RENAL: ().Sim (). Não

DISTÚRBO PULMONAR: ().Sim (). Não

DISTÚRBO HEPÁTICO: ().Sim (). Não

Casos de DOENÇA DE ALZHEIMER na família: ().Sim (). Não

Grau de parentesco: _____

Casos de DOENÇA DE PARKINSON na família: ().Sim (). Não

Grau de parentesco: _____

OUTRAS DOENÇAS?: _____

Alérgico a algum medicamento? _____

Alérgico a algum alimento? _____

Teve DEPRESSÃO? _____

Utilizou ou utiliza alguma medicação por longo tempo? (). Sim (). Não

Nome do medicamento (dosagem e frequência) e tempo que utilizou:

ANEXO C – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) indivíduos-controles

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética/CCB
Laboratório de Polimorfismos Genéticos

Projetos de Pesquisa: “Câncer de Mama: busca de miRNAs que controlam a expressão de *HLA-G*, uma molécula imunorreguladora, como biomarcador para diagnósticos e opções terapêuticas”, “Genética da autoimunidade: polimorfismos em Lúpus Eritematoso Sistêmico e Artrite Reumatoide em pacientes de Santa Catarina” e “Estudo Genético e Epidemiológico em Pacientes com Psoríase no Estado de Santa Catarina”

Informações: Pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina estão desenvolvendo projetos de pesquisa para avaliação de fatores genéticos, doenças e hábitos alimentares e pessoais que podem estar associados ao **aparecimento do câncer de mama e doenças autoimunes**. Para isto pedimos sua **colaboração e permissão** para fazer parte do **grupo controle** e para extrairmos de parte de seu material biológico, uma quantidade pequena de **DNA** (molécula que contém os genes, que são as informações de suas características biológicas). O DNA será analisado no laboratório para tentarmos descobrir se há relação entre alguns genes, propostos nos atuais projetos (ligados ao metabolismo de hormônios sexuais, de substâncias estranhas ao organismo, relacionados ao reparo de DNA e sistema imune) e o aparecimento destas doenças. A amostra coletada nesta ocasião poderá ser utilizada em possíveis futuros projetos que envolvam testes genéticos, aprovados pelo sistema CEP/CONEP, desde que receba novamente sua autorização, após um novo contato. Deixamos claro que **sua participação é voluntária**. A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à sua disposição para responder qualquer pergunta que você queira fazer, e esclarecer quaisquer dúvidas que porventura apareçam. Para isso você pode telefonar para o número **(48) 3721-9804** e conversar com a Profa. Dra. Iliada Rainha de Souza ou seus orientandos.

Procedimentos: Caso você concorde em participar, você irá preencher um questionário para sabermos seus dados pessoais (como nome, endereço e telefone) e irá assinar um termo de consentimento livre e esclarecido para que possamos utilizar seus dados pessoais e material biológico nestas pesquisas. Também precisaremos tirar um pouco de sangue numa seringa. O DNA extraído das amostras coletadas será guardado no Laboratório sob responsabilidade da coordenadora do projeto.

Entraremos em contato pelo telefone fornecido o mais breve possível para realizarmos um novo questionário de duração máxima de 20 minutos. Este questionário irá conter dados como seus hábitos alimentares e pessoais, histórico reprodutivo e histórico clínico, essenciais para o desenvolvimento das pesquisas.

Riscos: A coleta de sangue é um procedimento normal para a realização de vários exames. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações. As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidas em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

Custos: Você não precisará pagar nada para fazer parte deste estudo.

Benefícios: Você não terá nenhum benefício direto ao participar desta pesquisa, mas os resultados deste estudo poderão no futuro proporcionar novas alternativas para prevenção do câncer de mama e doenças autoimunes, e para identificação de pessoas que tem risco de desenvolver essas doenças, podendo beneficiar muitas outras pessoas.

Pesquisador responsável _____

Florianópolis, ___/___/_____

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____, fui esclarecido(a) sobre as pesquisas “Câncer de Mama: busca de miRNAs que controlam a expressão de *HLA-G*, uma molécula imunorreguladora, como biomarcador para diagnósticos e opções terapêuticas”, “Genética da autoimunidade: polimorfismos em lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide em pacientes de Santa Catarina” e “Estudo Genético e Epidemiológico em Pacientes com Psoríase no Estado de Santa Catarina” e concordo que meus dados sejam utilizados na realização das mesmas.

Florianópolis, ___/___/_____

Assinatura: _____ RG: _____

ANEXO D – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) indivíduos com câncer de mama

Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética/CCB
Laboratório de Polimorfismos Genéticos

Projeto de Pesquisa: “Câncer de Mama: busca de miRNAs que controlam a expressão de HLA-G, uma molécula imunorreguladora, como biomarcador para diagnósticos e opções terapêuticas”

Informações:

Pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina estão desenvolvendo um projeto de pesquisa para avaliação de fatores genéticos, doenças e hábitos alimentares e pessoais que podem estar associados ao aparecimento do câncer de mama. Para isso, pedimos a sua **colaboração e permissão** para extrairmos de parte de seu material biológico, uma quantidade pequena de **DNA** (molécula que contém os genes, onde estão as informações de suas características biológicas). O DNA extraído será analisado no laboratório para tentarmos descobrir se há relação entre alguns dos genes propostos no atual projeto (ligados ao metabolismo de hormônios sexuais e de substâncias estranhas ao organismo, ao reparo de DNA, etc.) e o aparecimento dessa doença. A amostra coletada nesta ocasião poderá ser utilizada em projetos futuros aprovados pelo sistema CEP/CONEP (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa), desde que receba novamente sua autorização, após um novo contato. Deixamos claro que **sua participação é voluntária**, e que não haverá influência no seu atendimento e tratamento. A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à sua disposição para responder qualquer pergunta que você queira fazer ou esclarecer qualquer dúvida que porventura apareça. Para isso você pode telefonar para o número **(48) 3721-9804** e conversar com a Dra. Iliada Rainha de Souza e com a Dra. Yara Costa Netto Muniz.

Procedimentos:

Caso você concorde em participar, você irá responder um questionário de duração aproximada de 15 minutos, para sabermos se você teve outras doenças, se outras pessoas na sua família tiveram câncer, etc. Também precisaremos de um pedacinho do tumor que será retirado pelo médico na hora da cirurgia e coletar um pouco de sangue em uma seringa. O DNA extraído das amostras coletadas será guardado no Laboratório sob responsabilidade da coordenadora do projeto.

Riscos:

A coleta de sangue e a retirada do tumor são procedimentos normais para o tratamento da sua doença. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações. As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidas em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

Custos:

Você não precisará pagar nada para fazer parte desse estudo.

Benefícios:

Você não terá nenhum benefício direto ao participar dessa pesquisa, mas os resultados desse estudo poderão no futuro proporcionar novas alternativas para prevenção do câncer, e para identificação de pessoas que tem risco de desenvolver a doença, beneficiando assim muitas outras pessoas.

Florianópolis, _____ de _____ de _____.

Nome e Assinatura do responsável: _____

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____, fui esclarecido(a) sobre as pesquisas “Câncer de Mama: busca de miRNAs que controlam a expressão de *HLA-G*, uma molécula imunorreguladora, como biomarcador para diagnósticos e opções terapêuticas”, “Genética da autoimunidade: polimorfismos em lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatoide em pacientes de Santa Catarina” e “Estudo Genético e Epidemiológico em Pacientes com Psoríase no Estado de Santa Catarina” e concordo que meus dados sejam utilizados na realização das mesmas.

Florianópolis, ___/___/_____

Assinatura: _____ RG: _____