



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Eduardo Ottoni

**Microambiente tumoral e comunicação celular em metástases na medula óssea**

Florianópolis

2023

Eduardo Ottoni

**Microambiente tumoral e comunicação celular em metástases na medula óssea**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Edroaldo Lummertz da Rocha, Dr.

Florianópolis

2023

Ficha catalográfica gerada por meio de sistema automatizado gerenciado pela BU/UFSC.  
Dados inseridos pelo próprio autor.

OTTONI, Eduardo

Microambiente tumoral e comunicação celular em metástases na medula óssea / Eduardo OTTONI ; orientador, Edroaldo Lummertz da ROCHA, 2023.

85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Câncer. 3. Metástases ósseas. 4. Single-cell. 5. Biologia computacional. I. ROCHA, Edroaldo Lummertz da . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título.

Eduardo Ottoni

**Microambiente tumoral e comunicação celular em metástases na medula óssea**

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

Marcelo Luiz Brunatto Falchetti, Dr.

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Leandro José Bertoglio, Dr.

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Prof. Dr. José Eduardo da Silva Santos  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a  
assinatura digital

Prof. Dr. Edroaldo Lummertz da Rocha  
Orientador

Florianópolis, 2023.

## RESUMO

Um tumor primário pode ser caracterizado pelo crescimento de células cancerígenas localizadas em algum tecido ou órgão. Quando essas células tumorais se disseminam pela circulação sanguínea, elas colonizam regiões distantes em relação ao tumor inicial, caracterizando o processo de metástase. Alguns órgãos são mais susceptíveis a esse processo, como os pulmões e medula óssea. A medula óssea é um tecido especializado localizado no interior dos ossos responsável pelo processo de hematopoiese. À medida em que as células tumorais interagem com as componentes celulares da medula, a hematopoiese é comprometida. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é identificar quais são as populações celulares mais evidentes nesse microambiente, buscando identificar quais são os genes alterados e quais são as vias de sinalização responsáveis por processos relacionados à imunossupressão, evasão do sistema imune e estabelecimento de novas metástases. A metodologia consiste na reanálise de dados de *single-cell* que englobam medula óssea acometida por metástase, utilizando o RStudio e os pacotes capazes de realizar as análises de interesse, como o *ClusterProfiler*, a função *enrichGO* e o algoritmo *CellComm*. A análise dos genes expressos pelos diversos tipos celulares identificou genes, como o *CXCL12* e *GIMAP7*, que favorecem a migração celular para o microambiente e disfunção dos linfócitos T, respectivamente. Além disso, redes de comunicação celular que envolvem os ligantes MIF e CXCL2, responsáveis pelo estabelecimento de um cenário inflamatório intermitente, também foram identificados pelo *CellComm*. Sendo assim, esses resultados fornecem um panorama mais detalhado a respeito das alterações que ocorrem na medula óssea acometida pela presença de células tumorais disseminada, possibilitando a realização de experimentos como intuito de verificar como essas mudanças impactam a dinâmica da medula.

**Palavras-chave:** câncer; metástases ósseas; *single-cell*; biologia computacional; *CellComm*.

## ABSTRACT

A primary tumor can be characterized by the growth of cancer cells located in some tissue or organ. When these tumor cells spread through the bloodstream, they colonize distant regions in relation to the initial tumor, characterizing the process of metastasis. Some organs are more susceptible to this process, such as the lungs and bone marrow. Bone marrow is a specialized tissue located inside the bones responsible for the process of hematopoiesis. As tumor cells interact with the cellular components of the marrow, hematopoiesis is compromised. Therefore, the aim of this study is to identify which cell populations are most evident in this microenvironment, seeking to identify altered genes and signaling pathways responsible for processes related to immunosuppression, evasion of the immune system, and the establishment of new metastases. The methodology consists of the reanalysis of single-cell data encompassing bone marrow affected by metastasis, using the RStudio programming environment and packages capable of performing the analyses of interest, such as ClusterProfiler, enrichGO, and the CellComm algorithm. The analysis of genes expressed by various cell types identified genes such as *CXCL12* and *GIMAP7*, which favor cell migration to the microenvironment and dysfunction of T lymphocytes, respectively. In addition, cellular communication networks involving the ligands MIF and CXCL2, responsible for the establishment of intermittent inflammation, were also identified by CellComm. Thus, these results provide a more detailed overview of the alterations that occur in bone marrow affected by the presence of disseminated tumor cells, enabling the conduct of experiments to investigate how these changes impact the dynamics of the marrow.

**Keywords:** câncer; bone metástases; single-cell; computational biology; *CellComm*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diferença entre o proto-oncogene e o oncogene.....	12
Figura 2 – Diferença entre um gene supressor de tumor funcional e um gene supressor de tumor com mutação.....	13
Figura 3 – Representação da ação adequada e inadequada dos genes de reparo do DNA .....	14
Figura 4 – Representação do processo de hematopoiese realizado pela medula óssea vermelha .....	17
Figura 5 – Microambiente tumoral e seus elementos .....	18
Figura 6 – Representação dos locais cujos procedimentos cirúrgicos foram realizados .....	23
Figura 7 – Diferenças quanto à proporção das populações celulares de acordo com a fração em que se encontram.....	27
Figura 8 – Populações celulares encontradas na porção benigna(esquerda) e na porção tumoral(direita) .....	28
Figura 9 – Genes diferencialmente expressos por TIM na fração tumoral e análise de ontologia .....	32
Figura 10 – Mecanismos que favorecem a progressão tumoral associados aos TAM .....	34
Figura 11 – Genes diferencialmente expressos por TAM na fração tumoral e análise de ontologia.....	35
Figura 12 – Genes diferencialmente expressos por células B maduras e tumoral e análise de ontologia .....	37
Figura 13 – Genes diferencialmente expressos por células B imaturas na fração tumoral e análise de ontologia.....	40
Figura 14 – Genes diferencialmente expressos pelos osteoblastos na fração tumoral e análise de ontologia .....	42
Figura 15 – Genes diferencialmente expressos por células progenitoras na fração tumoral e análise de ontologia.....	45
Figura 16 – Genes diferencialmente expressos por células endoteliais na fração tumoral e análise de ontologia.....	48
Figura 17 – Genes diferencialmente expressos por células dendríticas de origem mieloide(mDC) na fração tumoral e análise de ontologia .....	50

Figura 18 – Genes expressos por células dendríticas de origem plasmocitoide (pDC) na fração tumoral e análise de ontologia .....	52
Figura 19 – Genes diferencialmente expressos por células natural killer (NK) na fração tumoral e análise de ontologia.....	54
Figura 20 – Genes diferencialmente expressos por células natural killer do tipo T (NKT) na fração tumoral e análise de ontologia .....	56
Figura 21 – Representação do ligante CCL20, expresso por TIM e TAM, e sua interação com o receptor CCR6 presente em linfócitos T.....	58
Figura 22 – Representação do modelo experimental proposto por Kfoury e colaboradores .....	59
Figura 23 – Heatmap para as comunicações celulares da porção tumoral.....	60
Figura 24 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nas células tumorais ....	61
Figura 25 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos TIM.....	62
Figura 26 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos TAM.....	63
Figura 27 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos osteoblastos .....	64
Figura 28 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos osteoclastos .....	65
Figura 29 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nas células NK.....	66

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Estágios do câncer de acordo com os aspectos clínicos .....	15
Quadro 2 – Populações celulares com predominância na porção tumoral .....	28
Quadro 3 – Populações celulares com distribuição equilibrada entre a fração benigna e tumoral .....	29
Quadro 4 – Populações celulares com predominância na porção benigna .....	29
Quadro 5 – Populações celulares que apresentam aumento do número de genes diferencialmente expressos na porção tumoral .....	30
Quadro 6 – Populações celulares que apresentam redução do número de genes diferencialmente expressos na porção tumoral .....	30

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1	ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER .....	11
1.2	ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER.....	14
1.3	PROCESSO DE ESTABELECIMENTO DE METÁSTASE E METÁSTASES ÓSSEAS .....	15
1.4	MICROAMBIENTE TUMORAL E SUA IMPORTÂNCIA .....	17
<b>2</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>20</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	21
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>22</b>
4.1	OBTENÇÃO DOS <i>DATASETS</i> UTILIZADOS.....	22
4.2	PRÉ-PROCESSAMENTO DOS DADOS E CRIAÇÃO DO OBJETO <i>CELLROUTER</i> A PARTIR DOS DADOS BRUTOS .....	23
4.3	ANÁLISE DOS GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS NA PORÇÃO BENIGNA E TUMORAL UTILIZANDO A FUNÇÃO <i>COMPARETWOGROUPS</i> . .....	24
4.4	ANÁLISE DE ONTOLOGIA OU ENRIQUECIMENTO FUNCIONAL.....	25
4.5	PREDIÇÃO DE REDES DE COMUNICAÇÃO CELULAR UTILIZANDO O ALGORITMO <i>CELLCOMM</i> .....	25
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
5.1	DIFERENÇAS NA COMPOSIÇÃO CELULAR ENTRE A PORÇÃO BENIGNA E TUMORAL .....	27
5.2	GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS ENTRE A PORÇÃO TUMORAL E BENIGNA E ANÁLISE DE ONTOLOGIA .....	31
<b>5.2.1</b>	<b>Monócitos Inflamatórios no Tumor (TIM)</b> .....	31
<b>5.2.2</b>	<b>Macrófagos associados ao tumor (TAM)</b> .....	33
<b>5.2.3</b>	<b>Células B maduras</b> .....	36
<b>5.2.4</b>	<b>Células B imaturas</b> .....	39
<b>5.2.5</b>	<b>Osteoblastos</b> .....	41
<b>5.2.6</b>	<b>Células progenitoras</b> .....	44
<b>5.2.7</b>	<b>Células endoteliais</b> .....	46

<b>5.2.8</b>	<b>Células dendríticas de origem mieloide(<i>mDC</i>)</b> .....	<b>49</b>
<b>5.2.9</b>	<b>Células dendríticas plasmocitoides(<i>pDC</i>)</b> .....	<b>51</b>
<b>5.2.10</b>	<b>Células natural killer ou NK</b> .....	<b>53</b>
<b>5.2.11</b>	<b>Células natural killer do tipo T</b> .....	<b>55</b>
<b>5.3</b>	<b>ANÁLISE DAS REDES DE COMUNICAÇÃO CELULAR UTILIZANDO O CELLCOMM</b> .....	<b>58</b>
<b>5.3.1</b>	<b>Vias de comunicação celular mais evidentes nas células tumorais</b> .....	<b>61</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Vias de comunicação celular mais evidentes para os <i>TIM</i></b> .....	<b>62</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Vias de comunicação celular mais evidentes para os <i>TAM</i></b> .....	<b>63</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Vias de comunicação celular mais evidentes para os osteoblastos</b> .....	<b>64</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Vias de comunicação celular mais evidentes para os osteoclastos</b> .....	<b>65</b>
<b>5.3.6</b>	<b>Vias de comunicação celular mais evidentes para as células <i>NK</i></b> .....	<b>66</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>69</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 ASPECTOS GERAIS DO CÂNCER

O câncer é a segunda principal causa de óbitos em escala global, resultando em cerca de 9,6 milhões de mortes em 2018, o que equivale a uma em cada seis mortes. Nos Estados Unidos, os tipos mais prevalentes entre os homens incluem o câncer de pulmão, próstata, colorretal, estômago e fígado. Já entre as mulheres, os cânceres mais comuns são os de mama, colorretal, pulmão, cervical e tireoide (Organização Pan-Americana da Saúde, 2020).

Na população brasileira, os tipos de câncer mais comuns também são distintos entre homens e mulheres. No caso dos homens, destacam-se o câncer de próstata, pulmão e cólon, enquanto nas mulheres os mais frequentes são o câncer de mama, colo do útero e cólon. É crucial ressaltar que a prevalência específica de tipos de câncer em um determinado país está intrinsecamente ligada a fatores socioeconômicos, culturais e sociais próprios de cada nação (Instituto Oncoguia, 2022).

Estima-se que uma parcela substancial, variando entre 30% e 50%, das mortes relacionadas ao câncer poderia ser prevenida por meio da adoção de hábitos de vida mais saudáveis e pela diminuição dos fatores de risco. O tabagismo, sedentarismo, alimentação inadequada e exposição excessiva à radiação ultravioleta (UVA e UVB) são considerados como os principais contribuintes para mutações genéticas, destacando-se como elementos-chave nesse contexto (Bilodeau, 2021).

O câncer pode ser caracterizado como uma condição com base genética, e tem sua origem influenciada por diversos fatores, sejam eles de origem interna ou externa. Esses fatores têm a capacidade de alterar o funcionamento dos genes responsáveis por regular as funções celulares, especialmente os processos de crescimento, divisão celular e reparo de DNA (Goldberg; Parker; Gevers, 1991).

Quando células normais são expostas a agentes cancerígenos, mecanismos celulares responsáveis pelo reparo são acionados. No entanto, quando esses mecanismos falham, os danos celulares persistem e causam alterações na composição e integridade da membrana celular, citoplasma e núcleo. Esse processo resulta no surgimento de células defeituosas, as quais proliferam rapidamente e formam o tumor primário (Brose *et al.*, 2003).

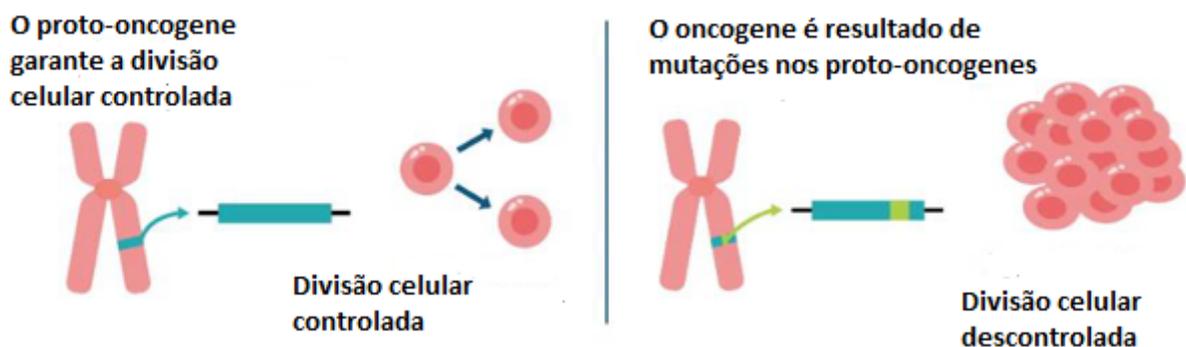
As modificações genéticas que desempenham um papel crucial no desenvolvimento do câncer geralmente afetam três categorias principais de genes: os proto-oncogenes, genes supressores de tumor e genes envolvidos no reparo do DNA. Essas alterações são frequentemente denominadas "*drivers*" ou promotoras do câncer, enfatizando seu papel essencial no desencadeamento e progressão da doença (Martínez-Jiménez *et al.*, 2020).

Os proto-oncogenes (Figura 1) são genes que atuam no controle do crescimento celular e na regulação do ciclo celular. A função normal desses genes é regular o crescimento celular, a diferenciação e a sobrevivência celular (Chial, 2008).

Eles codificam proteínas que estão envolvidas em vias de sinalização celular, controle do ciclo celular e reparo do DNA. Quando uma célula se divide ou responde a estímulos, as proteínas sintetizadas pelos proto-oncogenes são ativadas e desencadeiam respostas celulares (Eng, 1999).

No entanto, quando mutações ou outras alterações genéticas ocorrem, os proto-oncogenes se tornam oncogenes. Os oncogenes apresentam mutações que resultam na expressão gênica exacerbada, levando a uma desregulação descontrolada do crescimento celular, resultando na proliferação acentuada e contribuindo para a formação dos tumores primários (Cooper, 2000).

Figura 1 – Diferença entre o proto-oncogene e o oncogene



Fonte: Biocare Medical (2022).

Legenda: Um proto-oncogene, quando apresenta atividade adequada, garante a divisão celular controlada. No entanto, quando sofre mutações, se torna um oncogene. Isso resulta na proliferação celular aumentada.

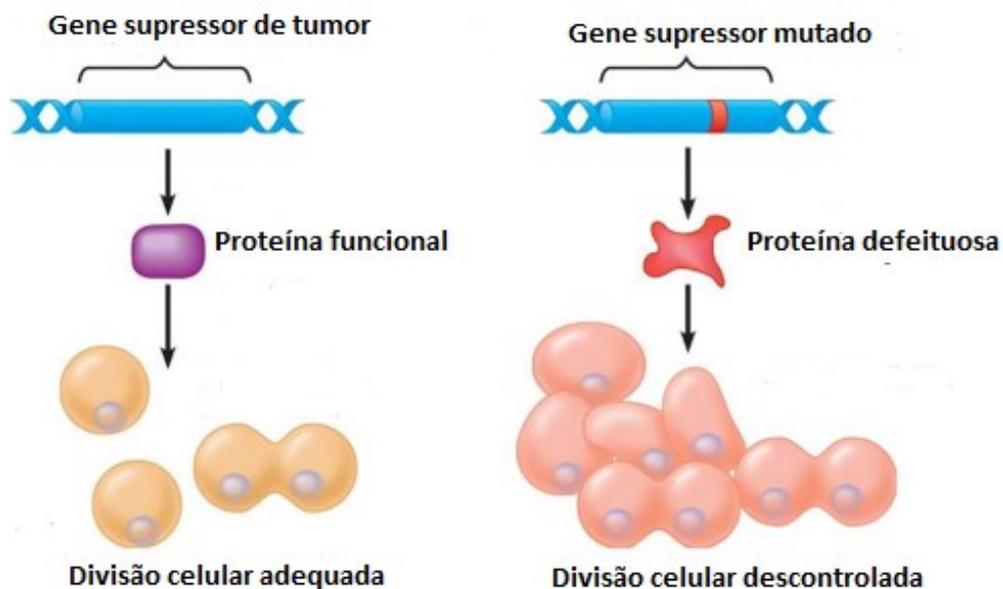
Já os genes supressores de tumor (Figura 2) exercem um papel crucial ao controlar a taxa de divisão celular, corrigir anomalias no DNA e sinalizar o momento adequado para a célula passar pelo processo de morte celular programada, conhecido

como apoptose. Quando ocorrem alterações em sua função, as células passam a se proliferar de maneira descontrolada, elevando substancialmente o risco de desenvolvimento de câncer (Mattar *et al.*, 2003).

É importante salientar que os genes supressores de tumor geralmente têm sua perda de função através de mutações pontuais ou deleção que inativam a atividade do gene em questão, resultando na proliferação celular acentuada (Wang *et al.*, 2018).

Um dos genes supressores de tumor mais conhecidos é o *TP53*, responsável por sintetizar a proteína p53. Essa proteína é considerada um fator de transcrição crucial no controle adequado da atividade de outros genes responsáveis pelo controle do ciclo celular, reparo do DNA e estabilidade genômica. As mutações no gene *TP53*, resultando em alterações na p53, são bem evidenciadas pela literatura e pela clínica, sendo relacionadas ao câncer de mama e pulmão (Marei *et al.*, 2021).

Figura 2 – Diferença entre um gene supressor de tumor funcional e um gene supressor de tumor com mutação



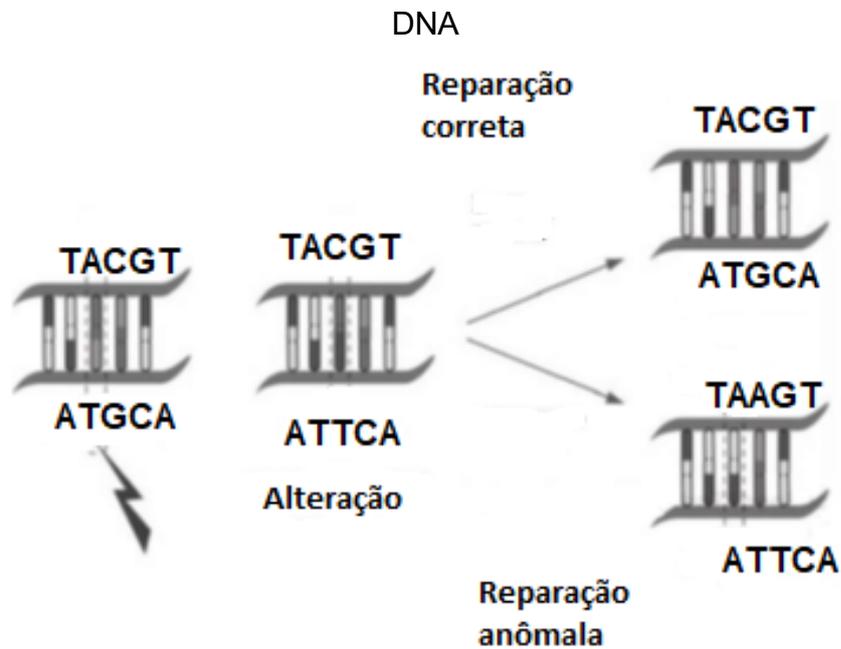
Fonte: Silveira (2018).

Legenda: Genes supressores de tumor sintetizam proteínas que controlam a divisão celular. Quando esses genes sofrem mutações, a proteína sintetizada perde seu efeito, resultando na divisão celular descontrolada.

A última categoria de genes que apresentam alterações no contexto do câncer abrange os genes de reparo de DNA. Esses genes desempenham uma função crucial na correção de danos no DNA, que são decorrentes de fatores internos e externos.

Células com mutações nesses genes têm uma propensão a desenvolver mutações adicionais em outros genes e a sofrer alterações nos cromossomos, incluindo duplicações e deleções de partes cromossômicas. Assim, essas mutações podem transformar células inicialmente saudáveis em células com características cancerígenas (Clancy, 2008).

Figura 3 – Representação da ação adequada e inadequada dos genes de reparo do



Fonte: Sousa (2021).

Legenda: Genes de reparo do DNA, quando funcionais, são capazes de reparar erros nas sequências de nucleotídeos, garantindo a integridade do material genético. Quando esses genes são alterados, o reparo não ocorre de maneira adequada, resultando em danos permanentes ao DNA.

## 1.2 ESTÁGIOS DO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER

O câncer é uma doença que possui diversas etapas de desenvolvimento, desde a formação inicial de células anômalas, denominada tumor primário, até a disseminação para outras regiões do corpo, processo conhecido como metástase. A descrição clínica dos estágios do câncer é frequentemente conduzida por meio de um sistema de classificação denominado sistema TNM, o qual leva em consideração três fatores fundamentais (Rosen; Saprà, 2023).

O primeiro parâmetro é identificado pela letra T, abrangendo a escala de T0 a T4, sendo que valores mais elevados indicam uma maior extensão da massa tumoral inicial. Já o segundo é caracterizado pela letra N, com variação de N0 (indicando a

ausência de envolvimento de linfonodos) até N3 (indicando uma invasão significativa dos linfonodos).

Por fim, o terceiro parâmetro é representado pela letra M, descrevendo se há presença de metástases no organismo do paciente. A designação M0 sugere a ausência de metástases, enquanto M1 indica a identificação de pelo menos uma metástase por meio de exames de imagem.

A combinação desses fatores possibilita a determinação do estágio de desenvolvimento do câncer, frequentemente designado por números romanos de I a IV. O estágio I sugere um câncer restrito ao tumor primário, enquanto o estágio IV indica um câncer avançado que se disseminou através de metástases. É crucial destacar que o sistema de classificação pode variar conforme o tipo de câncer, mas, de maneira geral, essa abordagem de classificação é pertinente para tumores sólidos (National Cancer Institute, EUA, 2022).

Quadro 1 – Estágios do câncer de acordo com os aspectos clínicos

Estágios do Câncer	Significado Clínico
Estágio 0	Células anormais estão presentes, porém ainda não se disseminaram para os tecidos adjacentes.
Estágio I, II e III	Células tumorais estão presentes no tecido local e áreas ao redor. Quanto mais avançado o estágio, maior é a extensão da massa tumoral.
Estágio IV	Presença de uma ou mais metástases em regiões distantes do organismo.

### 1.3 PROCESSO DE ESTABELECIMENTO DE METÁSTASE E METÁSTASES ÓSSEAS

O processo de estabelecimento de metástases envolve diversas etapas complexas. Inicialmente, ocorre a invasão local das células tumorais, seguida pela sua entrada na corrente sanguínea e posterior saída da circulação para, finalmente, se estabelecerem em locais distantes, como outros órgãos e tecidos (Van Zijl; Krupitza; Mikulits, 2011).

Durante a fase inicial de disseminação das células tumorais, o câncer primário libera fatores que propiciam condições adequadas para a colonização das células tumorais no local secundário, estabelecendo uma comunicação vital entre o tumor e o estroma. A migração e a plasticidade tanto das células cancerígenas quanto do

ambiente circundante, incluindo as células estromais e endoteliais, desempenham papéis cruciais nesse processo complexo (Langley; Fidler, 2011).

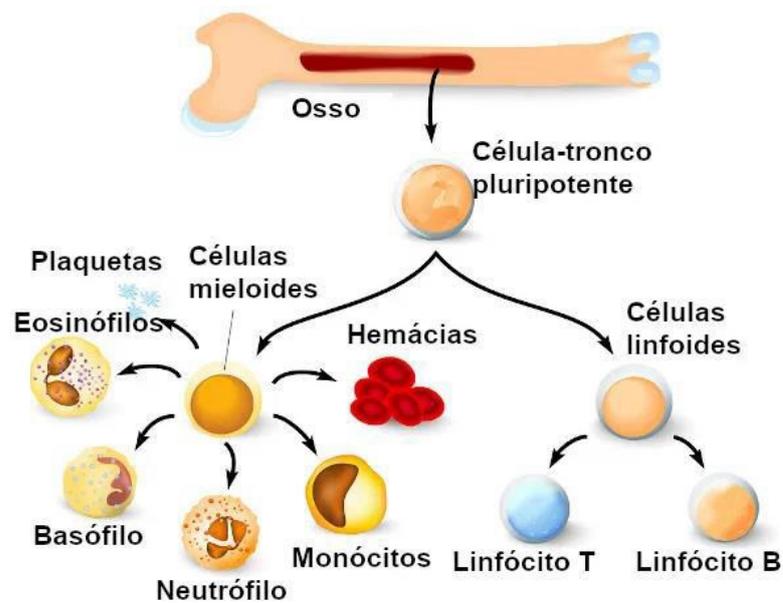
Os ossos do esqueleto representam o terceiro local mais suscetível ao desenvolvimento de metástases, ficando atrás apenas dos pulmões e do fígado. A maioria das metástases ósseas origina-se de tumores primários localizados na mama, próstata ou pulmão, embora tumores renais e tireoidianos também possam se disseminar para os ossos (Ryan *et al.*, 2022).

Essas metástases são mais prevalentes em áreas como a coluna vertebral, ossos da pelve (como o osso íliaco), fêmur, crânio e costelas. Os sinais e sintomas associados às metástases ósseas incluem dor persistente nos ossos, fraqueza, fraturas ósseas e, em casos mais graves, compressão da medula espinhal. A identificação precoce e o tratamento adequado são cruciais para gerenciar essas complicações metastáticas ósseas (Macedo *et al.*, 2017).

O câncer ósseo metastático, também conhecido como câncer ósseo secundário, refere-se aos tumores que se originam em outros tecidos e se disseminam (metastizam) para dentro dos ossos. A abundância de veias e artérias no interior dos ossos representa um fator crucial que os tornam locais altamente susceptíveis à disseminação metastática. Além disso, a presença da medula óssea também é um dos principais fatores determinantes para a propensão do tecido ósseo tornar-se alvo de metástases ósseas (Jayarangaiah; Kemp; Theetha Kariyanna, 2023).

A medula óssea é um tecido encontrado praticamente no interior de todos os ossos, sendo mais abundante em ossos longos como o fêmur e o osso íliaco. Desempenha um papel crucial na produção de células sanguíneas, incluindo glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas. Esse tecido pode ser funcionalmente dividido em dois tipos principais: a medula óssea vermelha, responsável pela produção intensa de células sanguíneas (processo denominado de hematopoiese), e a medula óssea amarela, que, predominantemente, consiste em células de gordura (Krebsbach *et al.*, 1999).

Figura 4 – Representação do processo de hematopoiese realizado pela medula óssea vermelha



Fonte: Toda Matéria (2023).

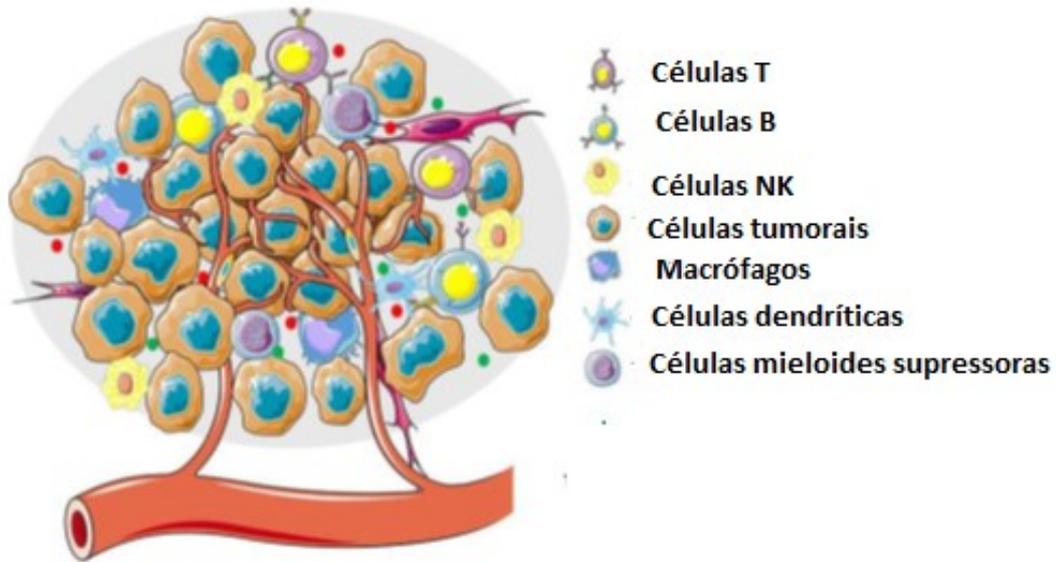
Legenda: A hematopoiese tem início a partir de células-tronco pluripotentes. Durante esse processo, ocorre a diferenciação em duas linhagens principais: uma associada às células mieloides, responsáveis pela produção de hemácias e monócitos, e outra relacionada às células linfoides, que originam os linfócitos T e os linfócitos B.

Contudo, a dinâmica regular da medula óssea pode ser interrompida, especialmente pela migração de células tumorais, levando à formação do microambiente tumoral (Anderson; Simon, 2020).

#### 1.4 MICROAMBIENTE TUMORAL E SUA IMPORTÂNCIA

O microambiente tumoral nas metástases ósseas desempenha um papel crucial no crescimento, desenvolvimento e longevidade dessas lesões. O tecido ósseo é composto por células ósseas, células do sistema imunológico, células endoteliais e uma matriz extracelular rica em colágeno, fosfato e cálcio, constituindo um microambiente altamente viável. Quando células cancerígenas alcançam o osso, elas estabelecem interações complexas com as células residentes, alterando o equilíbrio do microambiente (Baghban *et al.*, 2020).

Figura 5 – Microambiente tumoral e seus elementos



Fonte: Shi, Riese e Shen (2020).

Legenda: O microambiente tumoral é caracterizado pela interação das células tumorais com outras células residentes e células que são recrutadas para o local. Sendo assim, por fatores secretados ou contatos célula-célula, o microambiente se desenvolve.

Nas metástases ósseas, o microambiente tumoral fornece condições para que ocorra o crescimento das células cancerígenas por meio de diversos mecanismos. Por exemplo, as células tumorais têm a capacidade de secretar fatores que estimulam a formação de novos vasos sanguíneos, um processo conhecido como angiogênese. Esse fenômeno contribui para aumentar o fornecimento de nutrientes e oxigênio, promovendo assim o crescimento tumoral. Além disso, as células cancerígenas interagem com as células ósseas normais, acentuando o metabolismo ósseo pela ação dos osteoblastos e osteoclastos. Esse processo facilita a entrada e saída de células do osso, permitindo a invasão de novos tecidos (Cacho-Díaz *et al.*, 2020).

Além disso, o microambiente tumoral também desempenha um papel crucial na resposta imunológica. As células cancerígenas têm a habilidade de evadir o sistema imune local por meio de mecanismos de imunossupressão, modulação das células do sistema imunológico e interações com as células estromais do tecido conjuntivo do osso. Esses fatores não apenas contribuem para a progressão das metástases ósseas, mas também apresentam desafios adicionais no tratamento medicamentoso dessas lesões (Lee; Na; Choi, 2021).

Dessa maneira, a compreensão da heterogeneidade das células que compõem o microambiente tumoral torna-se crucial, assim como a compreensão das

diversas vias de sinalização estabelecidas. Essas vias não apenas influenciam diretamente na progressão do câncer, mas também podem ser alvos farmacológicos para o desenvolvimento de novas terapias (Ramos *et al.*, 2022).

## 2 HIPÓTESE

Quais são as alterações que as células tumorais disseminadas na medula óssea provocam no microambiente da medula óssea que sofreu metástase?

As células tumorais disseminadas na medula óssea favorecem a expressão de genes que apresentam mutações, alterando a dinâmica do microambiente tumoral através de novas vias de comunicação celular caracterizadas por processos de imunossupressão, migração celular acentuada e disfunção metabólica.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as diferenças na composição celular, expressão gênica e comunicação celular no microambiente da medula espinhal afetada por metástase óssea.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as diferenças na composição celular do microambiente tumoral em comparação com a medula óssea saudável;
- Identificar genes que estão *downregulated* ou *upregulated* em grupos celulares específicos presentes nas porções benigna e tumoral;
- Correlacionar os genes identificados com processos celulares que desempenham, por meio do enriquecimento funcional;
- Identificar vias de sinalização e comunicação celular referentes às populações celulares identificadas na porção tumoral.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 OBTENÇÃO DOS *DATASETS* UTILIZADOS

Neste estudo empregamos informações provenientes do banco de dados conhecido como GEO (Gene Expression Omnibus), uma fonte pública e acessível que oferece uma ampla variedade de conjuntos de dados. O conjunto de dados específico utilizados foram inicialmente produzidos e disponibilizados por Kfoury e colaboradores, no ano de 2021, em colaboração com especialistas do Massachusetts General Hospital e do Harvard Stem Cell Institute. Esses dados estão disponíveis no GEO com o código de identificação GEO: GSE143791.

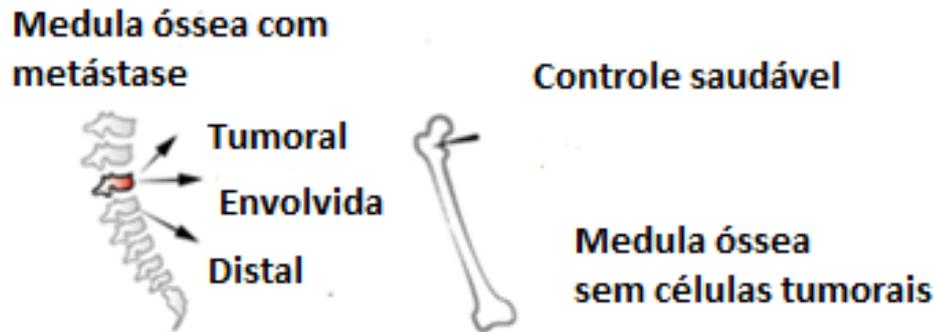
Para adquirir esses dados de scRNA-seq, a equipe médica, em colaboração com os autores do artigo, conduziu cirurgias em nove pacientes diagnosticados com câncer de próstata que apresentavam metástase na medula espinhal.

Esses procedimentos cirúrgicos foram necessários para mitigar a pressão e estabilizar as vértebras afetadas. É relevante destacar que todos os pacientes participantes consentiram voluntariamente e formalizaram sua concordância por meio da assinatura de termos de consentimento, autorizando expressamente a utilização dos tecidos obtidos por biópsias em atividades de pesquisa.

Os conjuntos de dados fornecidos pelos autores abrangiam amostras de tecido sólido de uma vértebra onde ocorreu o processo metastático (parte do tumor), medula óssea líquida da vértebra afetada por metástase (parte envolvida) e medula óssea líquida de uma vértebra distante daquela com a metástase (parte distal). Adicionalmente, foram disponibilizados dados da medula óssea saudável coletada dos ossos ilíacos de pacientes saudáveis, constituindo assim o grupo controle para comparação com os pacientes doentes.

Vale ressaltar que os dados dos pacientes saudáveis foram previamente publicados por Oetjen e colaboradores (2018) e estão disponíveis no GEO sob os códigos de identificação GEO: GSE120221 e GSE120446.

Figura 6 – Representação dos locais cujos procedimentos cirúrgicos foram realizados



Fonte: adaptado de Kfoury *et al.* (2021).

Legenda: A região tumoral e distal corresponde a biópsias realizadas em tecidos sólidos, já a região envolvida corresponde ao tecido líquido localizado no interior da vértebra.

#### 4.2 PRÉ-PROCESSAMENTO DOS DADOS E CRIAÇÃO DO OBJETO *CELLROUTER* A PARTIR DOS DADOS BRUTOS

Para a análise dos dados brutos de células individuais, empregamos uma ferramenta denominada Framework for Unified Single-Cell Analysis (FUSCA), um pacote desenvolvido na linguagem de programação R.

O FUSCA foi rodado através do ambiente RStudio (versão 4.3.0), a partir do servidor do Laboratório de Biologia de Sistema da UFSC. Este conjunto de ferramentas possui a capacidade de conduzir uma variedade de análises especializadas projetadas para dados dessa natureza.

A utilização das ferramentas do FUSCA permite o pré-processamento dos dados, uma etapa crucial responsável pela normalização e adequação dos dados, que viabiliza análises mais detalhadas.

Dessa forma, após esse processo, dois objetos do tipo *cellrouter* foram criados, sendo que um contém dados referentes à fração benigna e o outros dados da fração tumoral, possibilitando a execução de tarefas como a identificação dos tipos celulares presentes nos conjuntos de dados e outras análises cabíveis ao propósito do trabalho.

#### 4.3 ANÁLISE DOS GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS NA PORÇÃO BENIGNA E TUMORAL UTILIZANDO A FUNÇÃO *COMPARETWOGROUPS*.

A função *CompareTwoGroups* do FUSCA possui a capacidade de conduzir a análise de genes diferencialmente expressos, utilizando o cálculo da expressão média dos genes em duas populações celulares distintas. No contexto desta pesquisa, a análise de expressão diferencial tem o intuito de detectar os genes diferencialmente expressos. Essa abordagem oferece uma compreensão das diferenças moleculares da medula óssea afetada por metástase em comparação com a medula óssea saudável.

Os grupos celulares escolhidos para a análise se basearam na figura 7, onde estão representadas as proporções das populações celulares de acordo com a fração em que se encontram. O critério para a escolha das populações ocorreu, de forma geral, a partir dos tipos celulares que apresentam uma presença aumentada na porção tumoral. Sendo assim, os grupos celulares escolhidos para a análise foram os monócitos inflamatórios no tumor (*TIMs*), macrófagos associados ao tumor (*TAMs*), células B maduras (*Mature B cells*), células B imaturas (*Immature B cells*), osteoblastos, células progenitoras, células endoteliais, células dendríticas mieloides (*mDC*), células dendríticas de origem plasmocitoide (*pDC*), células natural killer (*NK*) e células *natural killer* do tipo T (*NKT*). Essa abordagem visa identificar os principais genes expressos por essas populações na fração benigna e tumoral.

É importante ressaltar que a função *CompareTwoGroups* permite a comparação entre grupos celulares que estão não estão presentes em ambas as porções analisadas, ou seja, nas porções benigna e tumoral. Entretanto, neste trabalho, para que seja possível analisar como os genes de algumas populações específicas se alteram entre a fração benigna e tumoral, apenas os grupos celulares que estão presentes nessas duas frações serão analisados.

É relevante destacar que nem todos os genes estão representados nas imagens a seguir, visto que isso resultaria em uma sobreposição de nomes, dificultando a visualização. Ademais, os genes que apresentam um valor de *p.adjust* menor que 0.05 não foram marcados, sendo a linha pontilhada nas imagens subsequentes a delimitação para esses genes. O valor de *p.adjust* escolhido reduz a probabilidade de erros do tipo 1, diminuindo a chance de encontrar resultados falso-positivos.

#### 4.4 ANÁLISE DE ONTOLOGIA OU ENRIQUECIMENTO FUNCIONAL

A análise de ontologia ou enriquecimento funcional permite identificar processos biológicos relacionados com os genes diferencialmente expressos por determinada população celular.

É importante salientar que esse tipo de análise não tem como intuito demonstrar de forma individual como cada gene atua no contexto em que está inserido, mas busca relacionar, de forma geral, todos os genes expressos com os principais processos biológicos que podem estar envolvidos.

Dessa forma, a análise foi conduzida a partir da função *enrichGO*. O usuário pode relacionar os genes diferencialmente expressos com três parâmetros principais, sendo eles BP (processo biológico), CC (componente celular) ou MF (função molecular), de acordo com o tipo de análise que deseja.

Neste trabalho, o parâmetro escolhido foi “processo biológico”, com o intuito de identificar os 10 processos mais relevantes que podem ser associados aos genes expressos pelas populações celulares identificadas na análise de genes diferencialmente expressos.

#### 4.5 PREDIÇÃO DE REDES DE COMUNICAÇÃO CELULAR UTILIZANDO O ALGORITMO *CELLCOMM*

O *CellComm* é um algoritmo de biologia de sistemas orientado por dados que integra sequenciamento de RNA de células únicas, redes de interação de proteínas e redes regulatórias de genes para inferir quais são os tipos celulares dentro de um tecido heterogêneo que estão de fato estabelecendo redes de comunicação celular, bem como seus programas transcricionais *downstream*, ou seja, vias de sinalização ou processo celular decorrentes da ativação de receptores de membrana celular.

Sendo assim, o *CellComm* é capaz de inferir quais são os principais pares de ligantes e receptores, bem como quais são as populações celulares que enviam um ligante e quais são os tipos celulares que possuem receptores para o ligante específico.

É importante salientar que este trabalho não realizou modelos experimentais, mas espera-se que, a partir da utilização do *CellComm*, seja possível gerar novas

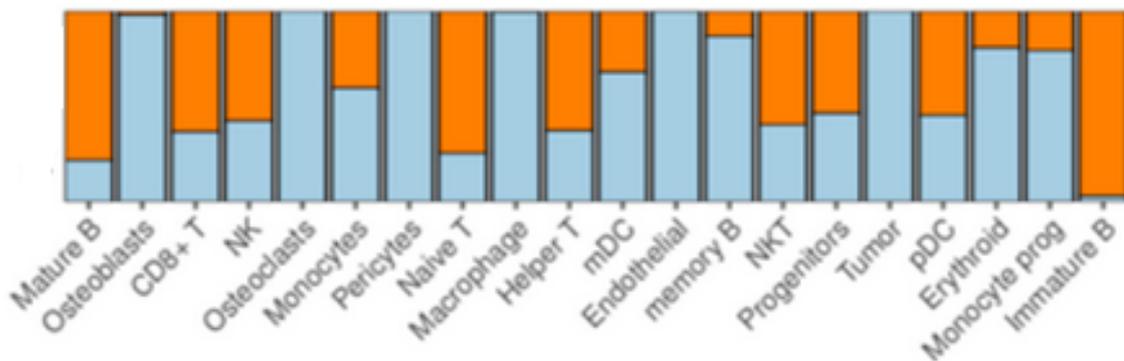
informações que contribuirão para futura consulta bibliográfica e execução de experimentos, por exemplo.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 DIFERENÇAS NA COMPOSIÇÃO CELULAR ENTRE A PORÇÃO BENIGNA E TUMORAL

Observa-se que algumas populações celulares podem experimentar aumentos ou reduções em decorrência das interações celulares e das condições presentes no microambiente. A população mais distintiva nesse microambiente é formada pelas próprias células tumorais, as quais migraram do tumor primário para o local da metástase.

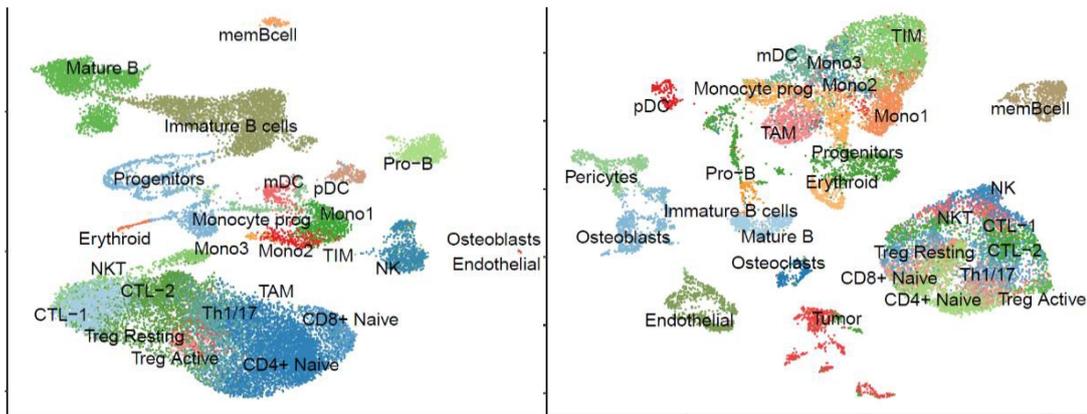
Figura 7 – Diferenças quanto à proporção das populações celulares de acordo com a fração em que se encontram



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: O gráfico de barras representa a proporção dos principais grupos celulares identificados. A cor laranja indica a porção benigna e cor azul é referente à porção tumoral. Quanto maior o preenchimento do gráfico de barras pela respectiva cor, indica que a população celular está presente em maior número na fração correspondente.

Figura 8 – Populações celulares encontradas na porção benigna(esquerda) e na porção tumoral(direita)



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: A fração tumoral e benigna apresenta diferenças quantitativas e qualitativas, sendo que algumas populações celulares são exclusivas de cada fração. Além disso, alguns grupos celulares aumentam ou diminuem quando se compara as duas frações.

Observa-se, de maneira destacada, um aumento notável de macrófagos na porção tumoral, enquanto essa população é discreta na medula óssea saudável. As células endoteliais e eritroides também manifestam um aumento, sugerindo uma possível resposta celular à necessidade de estabelecimento de novos vasos sanguíneos, processo denominado angiogênese, e maior aporte de oxigênio na área tumoral, decorrentes do processo de hipóxia.

Outras populações celulares, como aquelas relacionadas ao metabolismo ósseo, como osteoblastos e osteoclastos, tornam-se mais proeminentes no microambiente tumoral, em contraste com sua presença discreta na medula óssea saudável.

Quadro 2 – Populações celulares com predominância na porção tumoral

Tipo Celular	% de células na fração tumoral
Células tumorais	100%
Macrófagos	95%
Monócitos	70%
Células endoteliais	95%
Osteoblastos	95%
Osteoclastos	95%
Células dendríticas mieloides ( <i>mDC</i> )	75%
Células dendríticas plasmocitoides ( <i>pDC</i> )	70%

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Por outro lado, algumas populações, como as células NK e NKT permanecem relativamente inalteradas ou apresentam alterações pouco significativas. Entretanto,

as inalterações nas quantidades de células de determinada população não necessariamente indicam que a expressão gênica não se altera. É comum que a expressão gênica se altere no microambiente tumoral, justamente pela nova dinâmica que se estabelece.

Quadro 3 – Populações celulares com distribuição equilibrada entre a fração benigna e tumoral

Tipo Celular	% de células entre a fração benigna e tumoral
Linfócitos CD8+	50% em cada fração
Linfócitos T <i>helper</i>	50% em cada fração
Células <i>natural killer</i> (NK)	50% em cada fração
Células <i>natural killer</i> do tipo T (NKT)	50% em cada fração

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Adicionalmente, é observada uma redução nas populações de células B maduras e células B imaturas no microambiente tumoral. Essa diminuição sugere que algum fator ou sinalização específica presente nesse ambiente pode estar exercendo uma supressão no sistema imunológico adaptativo.

Quadro 4 – Populações celulares com predominância na porção benigna

Tipo celular	% de células na porção benigna
Células B imaturas	90%
Células B maduras	70%
Linfócitos T <i>naive</i>	75%

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Ao analisarmos a quantidade de genes, também observamos que alguns grupos celulares podem apresentar variações no número de genes diferencialmente expressos, dependendo da porção em que se encontram.

Notavelmente, os linfócitos e os macrófagos (*TAM* e *TIM*) são frequentemente descritos como os principais contribuintes para o estabelecimento de um microambiente imunossupressivo (Kwak *et al.*, 2020), o que pode explicar o aumento no número de genes diferencialmente expressos por esses grupos celulares. Essas descobertas ressaltam a influência crítica dessas populações celulares na complexidade do microambiente tumoral.

Observa-se também um aumento no número de genes diferencialmente expressos por osteoblastos e osteoclastos, indicando que, dada a natureza da metástase óssea, o metabolismo ósseo está ampliado. Esse aumento sugere uma

maior atividade nessas células, que desempenham papéis cruciais na síntese da matriz orgânica e na absorção e remodelação óssea. Essas alterações genéticas evidenciam a adaptação dessas populações celulares para enfrentar as demandas específicas do microambiente tumoral na medula óssea.

A observação do aumento no número de genes diferencialmente expressos nas células endoteliais e eritroides na porção tumoral está em consonância com a maior demanda por oxigênio e a necessidade de angiogênese, conforme mencionado anteriormente.

Quadro 5 – Populações celulares que apresentam aumento do número de genes diferencialmente expressos na porção tumoral

Tipo Celular	Genes diferencialmente expressos na porção benigna	Genes diferencialmente expressos na porção tumoral
Células tumorais	00	585
Macrófagos	07	727
Monócitos	05	1752
Células dendríticas mieloides ( <i>mDC</i> )	209	442
Osteoblastos	14	664
Osteoclastos	00	188
Células endoteliais	01	632
Células eritroides	59	241

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Quanto às células B maduras e células B imaturas, a diminuição significativa no número de genes na porção tumoral sugere uma possível supressão do sistema imunológico adaptativo nesse ambiente.

Quadro 6 – Populações celulares que apresentam redução do número de genes diferencialmente expressos na porção tumoral

Tipo Celular	Genes diferencialmente expressos na porção benigna	Genes diferencialmente expressos na porção tumoral
Células B imaturas	2707	43
Células B maduras	2118	584
Células natural killer (NK)	742	547
Células natural killer do tipo T (NKT)	726	498
Células progenitoras	1180	1092

Fonte: elaborado pelo autor (2023).

Essas correlações apontam para uma relação direta entre o aumento ou diminuição da quantidade de genes expressos e as variações nas populações celulares. Quando uma população celular aumenta no microambiente tumoral, observa-se um aumento correspondente no número de genes expressos. Da mesma forma, quando a população diminui, o número de genes também diminui. Essa relação demonstra uma proporcionalidade direta entre a quantidade de genes diferencialmente expressos e as alterações nas populações celulares.

## 5.2 GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS ENTRE A PORÇÃO TUMORAL E BENIGNA E ANÁLISE DE ONTOLOGIA

### 5.2.1 Monócitos Inflamatórios no Tumor (TIM)

Os monócitos, componentes do sistema imune inato, circulam na corrente sanguínea e são mobilizados para diferentes tecidos durante processos inflamatórios ou formação de tumores. Desempenham um papel crucial na manutenção da homeostase tecidual, iniciando respostas do hospedeiro contra patógenos e contribuindo para a ativação apropriada das respostas imunológicas (Espinoza; Emmady, 2023).

Apresentando uma ampla diversidade fenotípica, os monócitos podem ser categorizados como clássicos e não clássicos. Ambos os tipos podem exibir funções pró-tumorais ou antitumorais, dependendo dos estímulos aos quais estão expostos no microambiente (Chimal-Ramirez *et al.*, 2016).

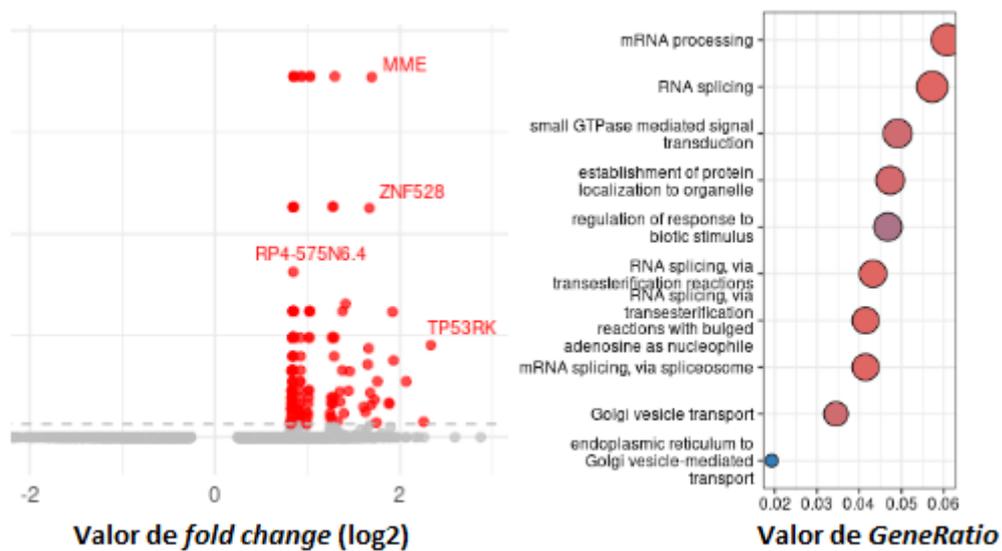
Os monócitos clássicos (CD14+CD16<sup>-</sup>), quando expostos a citocinas no microambiente tumoral, diferenciam-se em macrófagos associados ao tumor (TAM), promovendo imunossupressão, principalmente pela inibição da função dos linfócitos T, promoção da angiogênese e recrutamento de outras células para o local (Narasimhan *et al.*, 2019).

Em contrapartida, os monócitos não clássicos (CD14<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup>), quando funcionalmente ativos, demonstram potencial citotóxico contra células tumorais e facilitam a apresentação de antígenos a outras células do sistema imunológico (Kapellos *et al.*, 2019).

Dentre os diversos fatores que influenciam a dinâmica dos monócitos, a citocina CCL2 está associada ao intenso recrutamento de monócitos da medula óssea

durante a formação de tumores e processos metastáticos em alguns tipos de câncer, incluindo câncer colorretal, de mama e de próstata. Essa citocina, secretada por fibroblastos, células endoteliais e células epiteliais, está frequentemente relacionada a processos de inflamação crônica, não apenas no contexto do câncer, mas também na artrite reumatoide (Deshmane *et al.*, 2009).

Figura 9 – Genes diferencialmente expressos por TIM na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada na porção tumoral. Os genes com expressão reduzida não estão representados, mas seriam da cor azul se estivessem presentes.

Dentre os genes mais expressos pelos *TIM* no microambiente tumoral estão o *MME*, *ZNF528*, *RP4-575N6.4* e *TP535K*.

O gene *MME* é responsável pela síntese de uma glicoproteína relacionada a fenótipos de linfócitos imaturos, como ocorre na leucemia linfóide aguda (LLL). A LLL é uma doença caracterizada pela formação de linfócitos que apresentam danos ao seu material genético, sendo que não atingem o seu estágio de maturação final. Dentre os fatores relacionados a esse processo estão as infecções frequentes e alterações que modificam a atividade do sistema imune. No microambiente tumoral é comum que diversos fatores causem imunossupressão, favorecendo a expressão de genes como o *MME* (Puckett; Chan, 2023).

Já o gene *ZNF528* tem relação com a codificação de uma proteína dependente de íons de zinco, que é capaz de se ligar a sítios específicos da DNA-

polimerase 2, estimulando os fatores de transcrição no núcleo. Além disso, alguns estudos relatam que vias associadas ao zinco tem a capacidade de estimular a maturação das diversas células do sistema imune (Skarp *et al.*, 2020).

Por outro lado, o gene *RP4-575N6.4* não codifica proteínas e pode ser considerado um pseudogene. Os pseudogenes não possuem íntrons e são resultado da transcrição reversa de RNA mensageiros. Sendo assim, apesar de sua expressão acentuada, não há processos biológicos que podem ser relacionados a esse gene (Xu *et al.*, 2015).

Entretanto, o gene *TP535K* é um dos mais relevantes no contexto do câncer, pois sua atividade tem relação com a proteína p53. Essa proteína tem como função impedir a formação de tumores, principalmente devido a sua capacidade de reparar os danos no DNA ou direcionar as células anormais às vias de apoptose (Olivier; Hollstein; Hainaut, 2010).

Embora a p53 seja uma proteína com propriedades supressoras de tumor, algumas mutações específicas são capazes de alterar o alelo dominante do gene que a sintetiza, resultando na inativação do alelo saudável. Dessa maneira a p53 passa a atuar como um oncogene, favorecendo o crescimento celular desordenado (Vogelstein; Sur; Prives, 2010).

De acordo com a análise de ontologia, nota-se que a maioria dos genes expressos tem relação com processos envolvidos no processamento dos RNAs. Além disso, há genes que atuam nos mecanismos de transporte por vesículas no interior do complexo de Golgi, principalmente proteínas.

## **5.2.2 Macrófagos associados ao tumor (*TAM*)**

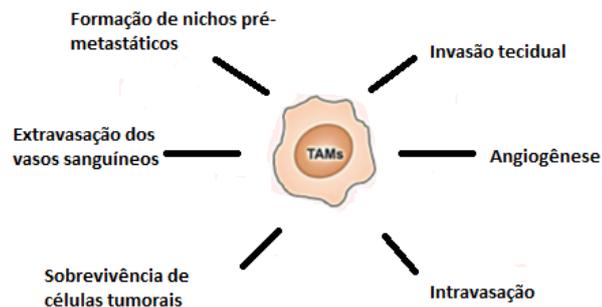
Como discutido anteriormente, os monócitos são células que apresentam uma migração intensa para o microambiente tumoral, onde sofrem maturação e se diferenciam em macrófagos. Contudo, sob a influência de diversas citocinas e condições ambientais, essa maturação frequentemente resulta em macrófagos com propriedades fenotípicas disfuncionais, denominados macrófagos associados ao tumor (*TAM*) (Yang *et al.*, 2014).

Os *TAM* estão comumente ligados à processos de imunossupressão, angiogênese e progressão tumoral. Isso se deve à liberação de citocinas

inflamatórias, como CCL20, IL-17 e IL-23, que alteram a dinâmica das células efectoras, especialmente os linfócitos B e T (Pan *et al.*, 2020).

A citocina IL-17, por exemplo, desempenha um papel significativo na indução da resposta inflamatória e na promoção da migração de células imunes para o local de inflamação. No entanto, quando presente em níveis elevados, como observado no microambiente tumoral, isso resulta na sua atividade persistente e inflamação crônica local, provocando disfunções que afetam toda a dinâmica celular (Zenobia; Hajishengallis, 2015).

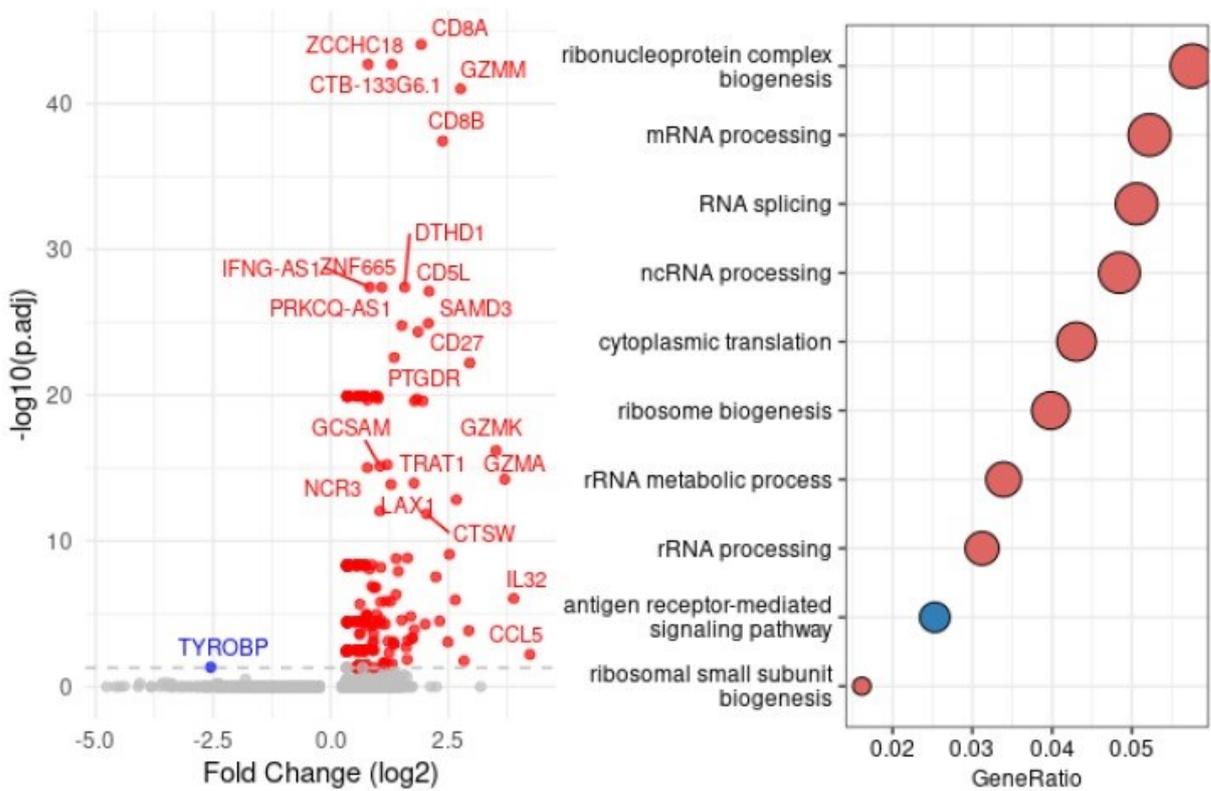
Figura 10 – Mecanismos que favorecem a progressão tumoral associados aos TAM



Fonte: Lin *et al.* (2010).

Legenda: Dentre os processos mais associados aos TAM estão a formação de nichos pré-metastáticos, invasão, facilitação do processo de vascularização e auxílio na sobrevivência das células tumorais circulantes.

Figura 11 – Genes diferencialmente expressos por TAM na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Dentre os genes com expressão significativa, os genes *CD8A* e *CD8B* codificam uma glicoproteína de superfície celular, encontrada em linfócitos T citotóxicos e outros tipos celulares (Kioussis; Ellmeier, 2002).

Essa proteína é responsável pela intermediação do contato célula-célula. Dessa maneira, quando está em níveis elevados, há o aumento da quantidade de interações celulares que as células realizam. No microambiente esse contato aumentado entre as células é um dos fatores responsáveis pelo estabelecimento de novas redes de comunicação celular (Chiodoni *et al.*, 2019).

Já os genes *GZMM*, *GZMK* e *GZMA* pertencem a uma família de genes responsáveis pela síntese de granzimas. Essas moléculas são proteínas enzimáticas secretadas por células com capacidade citotóxica, atuando nos processos de apoptose e fagocitose, principalmente de células infectadas por patógenos ou células tumorais (Wang *et al.*, 2015).

Entretanto, concentrações excessivas de granzimas podem ser relacionadas a efeitos negativos no sistema imunológico e na resposta inflamatória. O desequilíbrio na liberação de granzimas contribui para danos teciduais não específicos, levando a condições inflamatórias crônicas ou autoimunes (Trapani, 2001).

O controle adequado da liberação de granzimas é crucial para garantir que as células efetoras do sistema imunológico sejam capazes de eliminar de maneira seletiva células-alvo sem prejudicar os tecidos saudáveis adjacentes. Condições que resultam na liberação em excesso de granzimas são comumente relacionadas a distúrbios imunológicos ou inflamatórios (Voskoboinik; Whisstock; Trapani, 2015).

Outro gene relevante é o *CD27*. Ele atua na síntese de receptores responsáveis pelo funcionamento adequado e a longo prazo dos linfócitos T. Esses receptores, quando estimulados, também são responsáveis pela ativação de linfócitos B e síntese de imunoglobulinas. Mutações nesse gene prejudicam integralmente a ação dos linfócitos no microambiente tumoral, visto que perdem a sua capacidade efetora à medida em que o tumor progride (Starzer; Berghoff, 2019).

Dentre os processos biológicos mais relacionados aos genes expressos pode-se perceber que a maioria deles tem envolvimento no metabolismo ribossomal. Sendo assim, há a relação desses genes com a síntese e processamentos de RNAs ribossomais, principalmente aqueles que compõem as diversas subunidades dessa organela.

Além disso, outro processo identificado aqui tem relação com vias de sinalização relacionadas a receptores de antígeno. Isso vai de acordo com relatos da literatura que conectam a presença dos *TAM* no microambiente tumoral com a disfunção dos diversos processos relacionados a apresentação de antígenos (Kataki *et al.*, 2002).

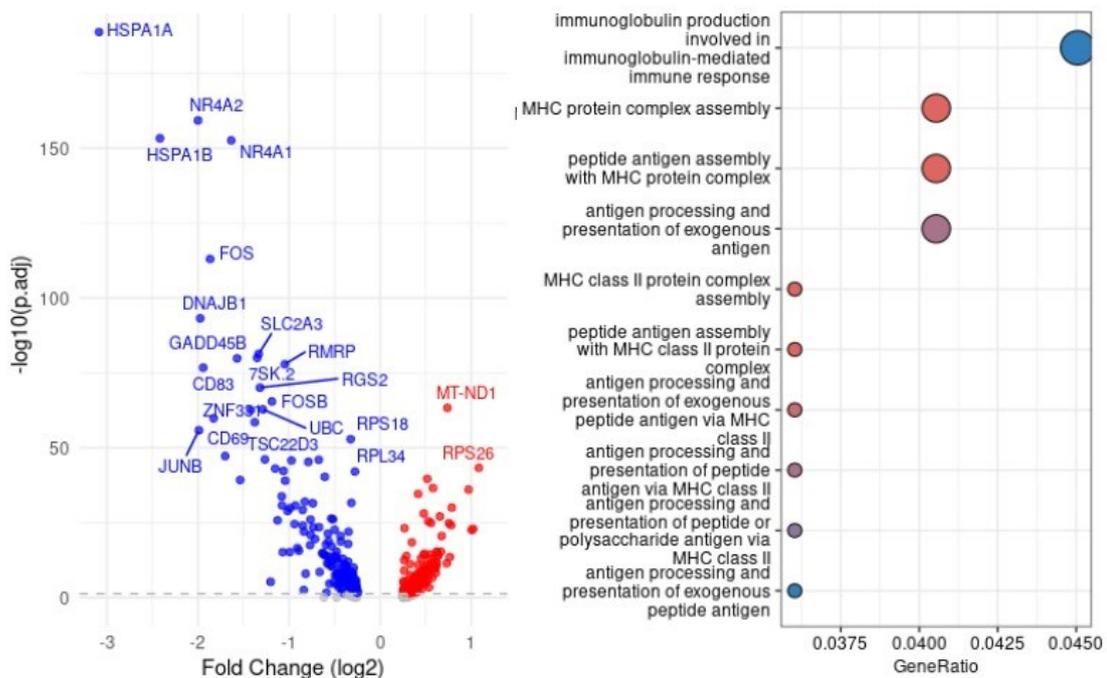
### **5.2.3 Células B maduras**

As células B maduras desempenham uma função vital na resposta imune adaptativa, sendo responsáveis pela produção de anticorpos essenciais na defesa contra patógenos. Originados de células progenitoras na medula óssea, essas células passam por um processo de maturação e seleção antes de atingirem a circulação sanguínea, onde se fixam nos linfonodos e baço, garantindo sua imuno competência (Lebien; Tedder, 2008).

No entanto, quando encontrados no microambiente tumoral, vários fatores comprometem a eficácia funcional das células B, dificultando a resposta imunológica antitumoral. A presença significativa de macrófagos associados ao tumor (*TAM*) e monócitos associados ao tumor (*TIM*) no microambiente está associada a alterações nas células B, especialmente pelo aumento da liberação de citocinas com propriedades imunossupressoras, como TGF-beta e IL-10 (Tzavlaki; Moustakas, 2020).

Além disso, outras condições adversas impactam as células B, como o aumento de espécies reativas de oxigênio, a instalação de condições de hipóxia e o aumento da acidez do ambiente, notadamente devido ao acúmulo de lactato. Esses fatores contribuem para o comprometimento da funcionalidade das células B no combate ao crescimento tumoral (Muz *et al.*, 2015).

Figura 12 – Genes diferencialmente expressos por células B maduras e tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Dentre os genes mais expressos pelas células B maduras na porção tumoral podem citar o *MT-ND1* e *RPS26*.

O gene *MT-ND1* tem relação com a síntese da enzima NADH desidrogenase, responsável pelo transporte de elétrons durante a respiração celular. Mutações nesse gene, embora que sejam raras, podem ser associadas ao processo de acidose láctica, processo caracterizado pelo acúmulo de lactato intra e extracelular. Dessa maneira, mutações nesse gene também são relevantes ao microambiente tumoral, visto que isso resulta na disfunção do sistema imune, que apresenta alta sensibilidade à ocorrência de alterações metabólicas como essa (Akouchekian *et al.*, 2021).

Já o gene *RPS26* contém RNAs mensageiros responsáveis pela síntese de aproximadamente 80 proteínas que compõem os ribossomos. Por mais que as funções específicas dessas proteínas ainda não sejam totalmente elucidadas, estima-se que façam parte de vias de sinalização intracelular, regulação do processo de divisão celular e controle de vias que direcionam as células defeituosas à apoptose (Doherty *et al.*, 2010).

Dentre os processos biológicos exercidos pelos genes expressos nota-se que grande parte deles atua na produção e na resposta imune mediada por imunoglobulinas, sendo essas moléculas são cruciais na manutenção das respostas inflamatórias adequadas (Zhao *et al.*, 2021).

Além disso, uma parcela significativa dos genes pode ser relacionada a mecanismos de apresentação de antígeno, tanto nos complexos de MHC tipo 1 como MHC tipo 2.

O MHC de tipo 1 é encontrado na superfície celular de praticamente todas as células, sendo responsável por apresentar fragmentos de proteínas endógenas anormais, como as provenientes de células tumorais, e ativar os linfócitos T citotóxicos (Becar; Kasi, 2022).

Por outro lado, o MHC de tipo 2 é exclusivo de células NK, células dendríticas e linfócitos B. Sua ação consiste no reconhecimento e apresentação de fragmentos de proteínas de origem exógena, permitindo a ativação adequada do sistema imune adaptativo (Holling; Schooten; Van Den Elsen, 2004).

Sendo assim, distúrbios que afetam o funcionamento dos complexos de MHC são um dos principais fatores que favorecem o estabelecimento de quadros inflamatórios exacerbados, como ocorre no câncer e doenças autoimunes (Dhatchinamoorthy; Colbert; Rock, 2021).

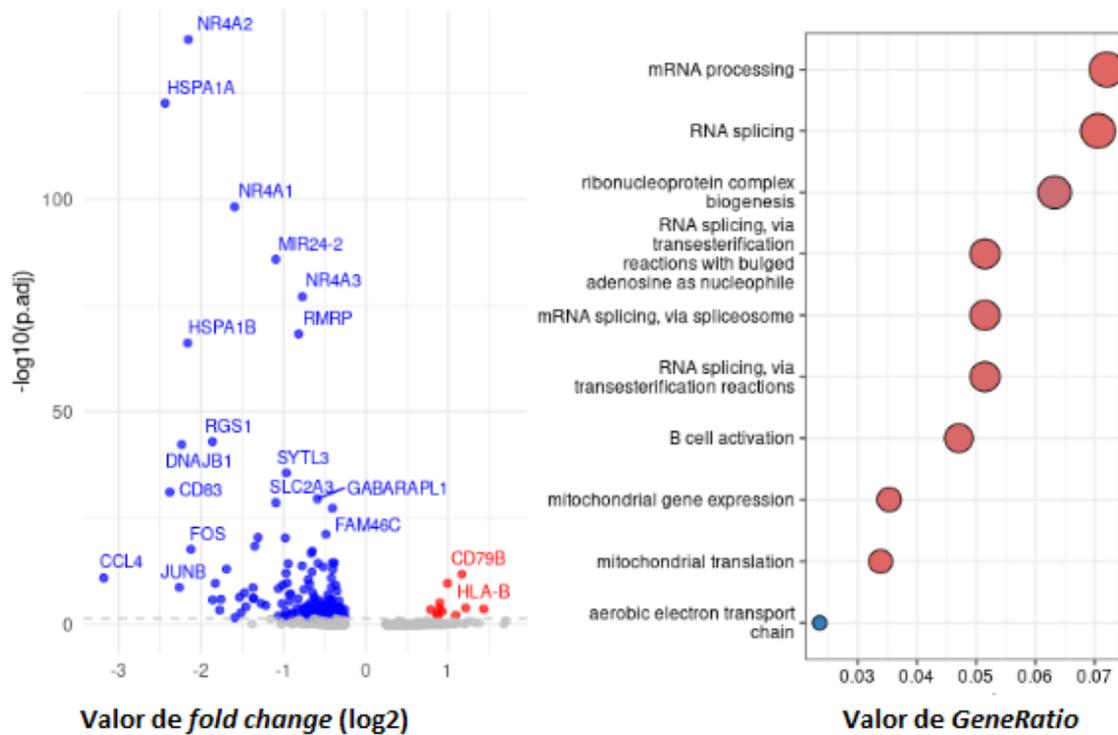
#### 5.2.4 Células B imaturas

A maturação das células B imaturas envolve a reorganização do gene do receptor de células B, resultando na expressão de uma forma única de anticorpo na superfície dessas células. Durante esse processo, as células passam por estágios que incluem precursores imaturos e maduros. As células B imaturas são caracterizadas por terem iniciado o rearranjo do gene do receptor de células B, mas ainda não terem completado esse processo (Marshall-Clarke; Tasker; Parkhouse, 2000).

Sendo assim, a maturação final das células B ocorre quando elas encontram e interagem com antígenos específicos. Se uma célula B reconhece um antígeno de maneira eficaz, ela se diferencia em uma célula B madura, que é capaz de produzir anticorpos para combater o antígeno específico. Essa resposta imunológica adaptativa é essencial para a defesa do organismo contra patógenos, e os linfócitos B desempenham um papel central nesse processo (Wang *et al.*, 2020).

No contexto do câncer, a regulação e função das células B podem ser complexas e variadas. As células B, incluindo os imaturos, desempenham papéis importantes na resposta imunológica contra o câncer, mas também podem estar sujeitos a modulação e supressão pelos mecanismos tumorais, resultando em disfunções celulares (Wu *et al.*, 2022).

Figura 13 – Genes diferencialmente expressos por células B imaturas na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Dentre os genes mais expressos por células B imaturas no microambiente tumoral estão o *CD79B* e *HLA-B*.

O gene *CD79B* tem importância na síntese do complexo CD79, formado por duas proteínas denominadas CD79A e CD79B, sendo importante em mecanismos de sinalização relacionados aos linfócitos B (Visco *et al.*, 2020).

Dessa forma, o complexo participa da coordenação dos mecanismos intracelulares responsáveis pela ativação dos linfócitos, resultando na produção de anticorpos. Alterações gênicas que alteram a integridade do complexo resultam na ativação inadequada desses linfócitos, diminuindo ou até encerrando a produção dos anticorpos responsáveis por eliminar células defeituosas e patógenos (Chen *et al.*, 2019).

Já o gene *HLA-B* codifica uma proteína que faz parte da família de antígenos leucocitários humanos. As proteínas pertencentes a essa família têm como papel principal a apresentação de antígenos aos linfócitos T citotóxicos (Michelakos *et al.*, 2022).

Além disso essas proteínas atuam como moléculas capazes de mediar o processo de imuno vigilância, caracterizado pela constante busca e identificação de antígenos que serão posteriormente apresentados às células efectoras, desencadeando a resposta imune (Pishesha; Harmand; Ploegh, 2022).

Entretanto, como as células tumorais são altamente capazes de alterar a dinâmica de outras células, elas têm o potencial de alterar a expressão e atividade de alelos do gene *HLA-B*, resultando na sua disfunção. Quando isso ocorre, a principal consequência é o surgimento de mecanismos de evasão imunológica, caracterizado pela incapacidade do sistema imune em reconhecer padrões moleculares relacionados a células defeituosas (Kim; Cho, 2022).

De acordo com a análise de ontologia pode-se perceber que mais genes, além do *CD79B*, participam de mecanismos relacionados a ativação dos linfócitos B. Entretanto, no contexto apresentado, há indícios de que esses genes também estão disfuncionais.

Processos relacionados a expressão gênica e mecanismos de translação mitocondrial também podem ser relacionados a uma parcela dos genes expressos, principalmente pelo metabolismo aumentado dos RNAs mensageiros que são processados no interior dessa organela.

### **5.2.5 Osteoblastos**

Os osteoblastos são células especializadas envolvidas na osteogênese, contribuindo para o depósito de matéria orgânica e mineral nos ossos, aumentando sua dureza e resistência. Por outro lado, os osteoclastos desempenham um papel oposto, participando da remodelação óssea ao favorecerem a liberação de cálcio e minerais, conferindo maior flexibilidade aos ossos (Henry; Bordoni, 2023).

Os ossos são considerados um tipo de tecido conjuntivo, sendo que possuem uma matriz extracelular mineralizada composta por cálcio, fósforo, colágeno e outros elementos. Essa matriz é continuamente remodelada pela ação dinâmica dos osteoblastos e osteoclastos, garantindo a integridade estrutural e funcional dos ossos (Chen *et al.*, 2017).

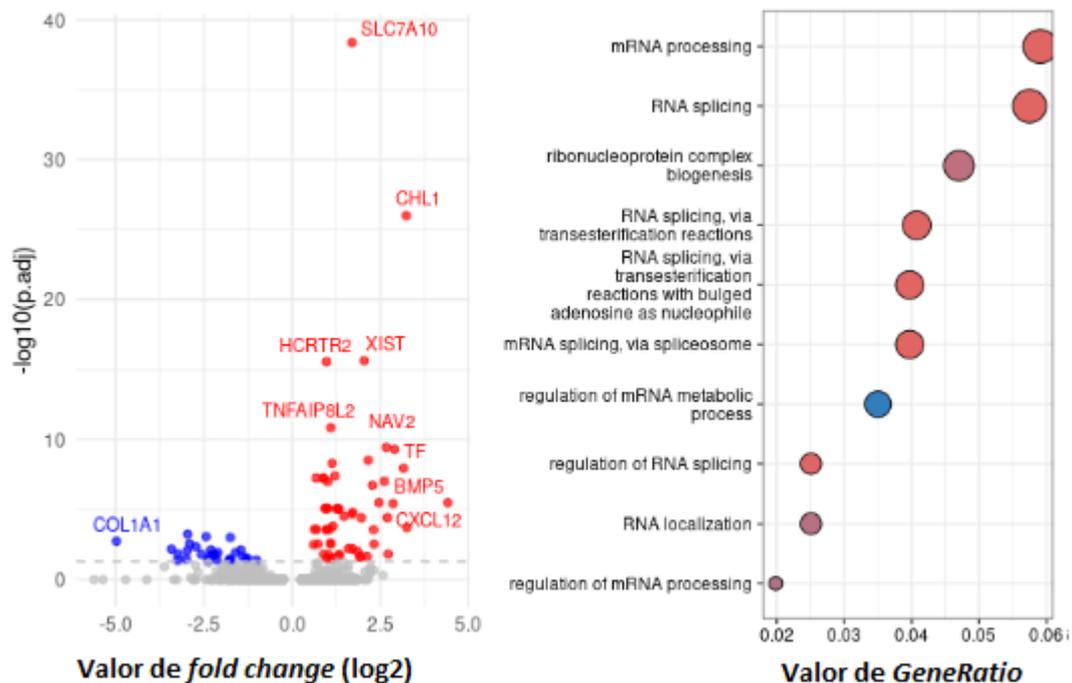
Contudo, fatores pró-inflamatórios derivados de células tumorais e outras células presentes no microambiente afetam diretamente a dinâmica de equilíbrio entre osteoblastos e osteoclastos. A via de sinalização RANK-RANKL é fundamental nesse

equilíbrio, especialmente no contexto de metástases ósseas. Alterações nessa via estão associadas à presença de células tumorais no microambiente ósseo, resultando em aumento da atividade dos osteoclastos e redução da atividade dos osteoblastos (Boyce; Xing, 2007).

Esse desequilíbrio contribui para o aumento de cálcio na corrente sanguínea. Além disso, está intimamente relacionado à malignidade e estágios avançados do câncer, podendo causar elevação do cálcio sanguíneo, levando a sintomas como confusão mental, declínio cognitivo e, em casos extremos, coma (Mirrakhimov, 2015).

As alterações no metabolismo ósseo também desempenham um papel significativo na dormência celular das células malignas no interior dos ossos. Os osteoblastos secretam fatores que regulam a proliferação e crescimento celular, mantendo as células tumorais inativas nas camadas externas do osso. Esse processo, quando alterado, é um dos principais mecanismos que permite entender os fenômenos de disseminação e dormência de células tumorais no ambiente ósseo (Byrne; Summers; McDonald, 2019).

Figura 14 – Genes diferencialmente expressos pelos osteoblastos na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Dentro os genes com expressão significativa, o gene *TNFAIP8L2* regula de forma negativa a ativação dos linfócitos T, atuando como regulador da resposta imune, tanto a inata como a adaptativa. Além disso inibe a ativação das vias JUN/AP1 e NF-kappaB, que comumente estão com a atividade aumentada em tumores com padrão de metástase (Li *et al.*, 2018).

A via JUN/AP1, por exemplo, é ativada por citocinas e condições de estresse celular, favorecendo o aumento da expressão de genes relacionados à proliferação, diferenciação e sobrevivência celular de diversos grupos celulares (Schonthaler; Guinea-Viniegra; Wagner, 2011).

Já o gene *CXCL12* codifica a citocina de mesmo nome, que possui grande capacidade quimiotática. É um gene comumente associado ao câncer gástrico, intestinal e de mama. Além disso, a ação dessa citocina está relacionada à migração de células tumorais que expressam de maneira demasiada o receptor CXCR4, permitindo a migração e colonização dessas células, estabelecendo novas metástases em regiões como os ossos, pulmões e linfonodos (Goïta; Guenot, 2022).

Outro gene relevante é o *CHL1*, pois é relacionado com processos de invasão de células tumorais e formação de metástases. Em diversos tipos de câncer a expressão elevada desse gene pode ser associada à estágios mais avançados da doença, sendo relacionado à menores chances de sobrevivência do paciente (Yang *et al.*, 2017).

O gene *TF* faz parte de uma família de genes que codificam diversas proteínas que atuam como fatores de transcrição, regulando a expressão de outros genes. Sendo assim, a atividade de um fator de transcrição pode resultar no aumento ou diminuição da expressão de determinados genes, resultando em efeitos variados dependendo do tipo de gene estimulado por esses fatores (Vishnoi *et al.*, 2020).

De acordo com a análise de ontologia pode-se relacionar os genes expressos com processos que regulam o processamento e localização dos RNAs mensageiros, resultando na síntese de proteínas com funções diversas. No contexto do câncer esse processo está acentuado, porém a funcionalidade dessas proteínas é comprometida em decorrência da atividade ineficaz dos mecanismos envolvidos no controle adequado da síntese de proteínas (Goodall; Wickramasinghe, 2021).

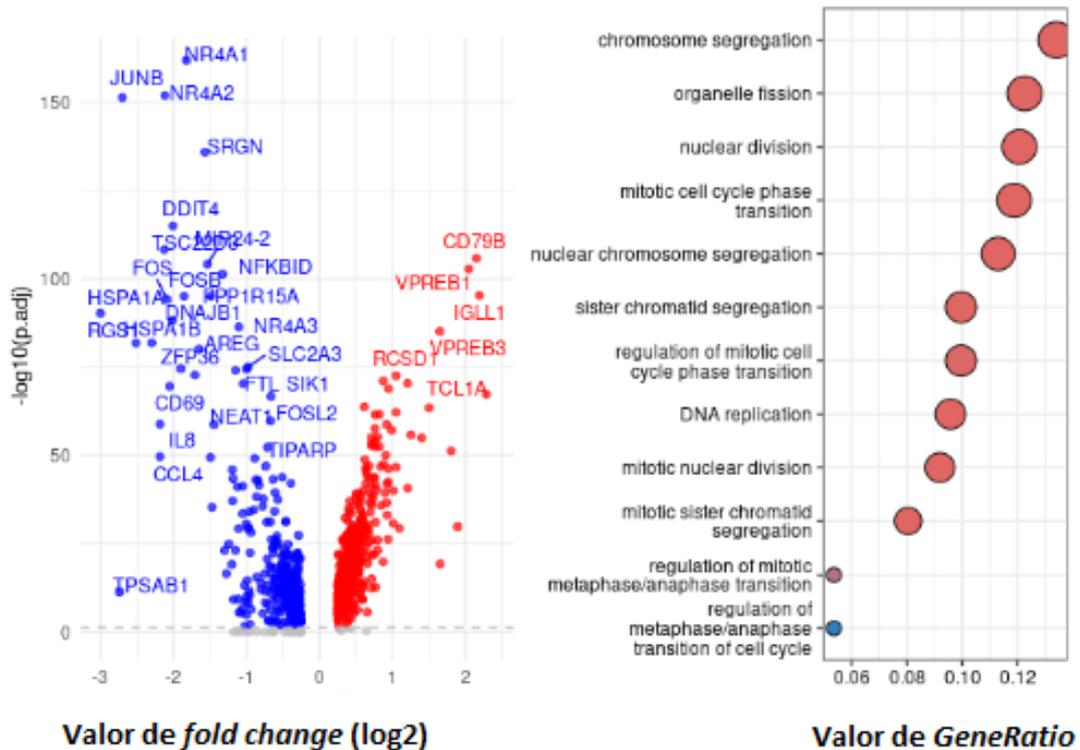
### 5.2.6 Células progenitoras

As células progenitoras hematopoiéticas, localizadas na medula óssea, são células-tronco com a capacidade única de se diferenciar em vários tipos de células sanguíneas, incluindo hemácias, plaquetas e células do sistema imunológico (Li; Laterra, 2012).

No contexto do microambiente tumoral, essas células adquirem a designação de células progenitoras tumorais ou células-tronco tumorais, desempenhando um papel crucial no desenvolvimento e na progressão do câncer. A presença dessas células contribui para a heterogeneidade celular dentro do tumor, originando diferentes tipos celulares com propriedades imunossupressoras. Consequentemente, as células progenitoras tumorais estão associadas à resistência a tratamentos, como quimioterapia e radioterapia, aumentando a probabilidade de recorrência tumoral e disseminação de novas metástases (Souza; Schenka, 2015).

Assim como vários tipos celulares têm suas funções alteradas no microambiente tumoral em resposta a estímulos como fatores de crescimento, citocinas e interações celulares, as células progenitoras também são suscetíveis a esses sinais. Esses estímulos desempenham um papel crucial no controle do processo de proliferação e diferenciação dessas células no ambiente tumoral. O entendimento dessas interações é essencial para desenvolver estratégias eficazes de tratamento que visem as células progenitoras tumorais e abordem a heterogeneidade e a resistência observadas nos tumores (Nayak; Warriar; Kumar, 2022).

Figura 15 – Genes diferencialmente expressos por células progenitoras na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Os genes *VPREB1*, *IGLL1* e *VPREB3* tem relação com os linfócitos B em estágios menos diferenciados. Esses genes codificam uma proteína que atua na maturação e desenvolvimento de linfócitos B. Além disso, mutações nesses genes podem ser associadas com o surgimento de linfomas (Mangum *et al.*, 2013; Rodig *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2023).

Outro gene relacionado ao desenvolvimento dos linfócitos B é o *CD79B*. Ele atua na síntese da proteína que compõe o complexo de receptor de antígenos dessas células (Pu *et al.*, 2022).

Quando os linfócitos entram em contato com antígenos, esse receptor é ativado e desencadeia ativação e proliferação desse tipo celular. Por outro lado, quando o gene sofre mutações, os linfócitos são ativados de maneira inadequada, principalmente pela deficiência do receptor, resultando no desenvolvimento incompleto de células B (Ruffel *et al.*, 2010).

O gene *IGLL1*, ainda que pouco elucidado, também pode ser correlacionado aos linfócitos B. Esse gene sintetiza uma imunoglobulina que atua como um fator

responsável pela ativação de genes que produzem outras imunoglobulinas. As mutações nesse gene também são pouco evidentes, mas se sabe que resultam na diminuição dos linfócitos B (Cosgun *et al.*, 2018).

De acordo com a análise de ontologia foi possível correlacionar os genes expressos com diversos processos biológicos envolvidos na replicação do DNA. Além disso, alguns genes estão envolvidos em processos que regulam os processos de divisão celular.

Quando as células se dividem, gerando outras células-filhas, é crucial que essas células apresentem as mesmas propriedades das células originais, garantindo que as próximas gerações celulares sejam funcionais. Dentre os mecanismos responsáveis por isso estão aqueles relacionados ao controle do ciclo celular (Matthews; Bertoli; De Bruin, 2022).

Entre as diversas etapas desse ciclo está a fase da mitose, caracterizada por etapas denominadas de prófase, metáfase, anáfase e telófase, sendo que são reguladas pela ação de diversas proteínas que garantem a qualidade do processo (O'Connor, 2008).

Além disso, uma fase crucial do ciclo é caracterizada pela transição da metáfase para a anáfase, onde as células filhas recebem o material genético completo da célula-mãe. Eventos que perturbam esse acontecimento estão relacionados não somente com a proliferação celular acentuada, mas também com o surgimento de células que apresentam erros no DNA, levando à expressão gênica inadequada (Farr; Cohen-Fix, 1999).

### **5.2.7 Células endoteliais**

As células endoteliais desempenham a função de revestir a parte interna dos vasos sanguíneos, formando uma camada denominada endotélio. No microambiente tumoral, as células endoteliais exercem um papel crucial na vascularização do tumor, impactando diretamente a taxa de crescimento e disseminação das células cancerígenas (Yao; Zeng, 2023).

A angiogênese, que envolve a formação de novos vasos sanguíneos, é essencial para o crescimento da massa tumoral. Isso é particularmente relevante no câncer, onde os vasos no microambiente tumoral desempenham um papel vital no

suprimento de oxigênio, metabólitos e nutrientes, além de facilitar a entrada e saída de células tumorais pela corrente sanguínea (Nishida *et al.*, 2006).

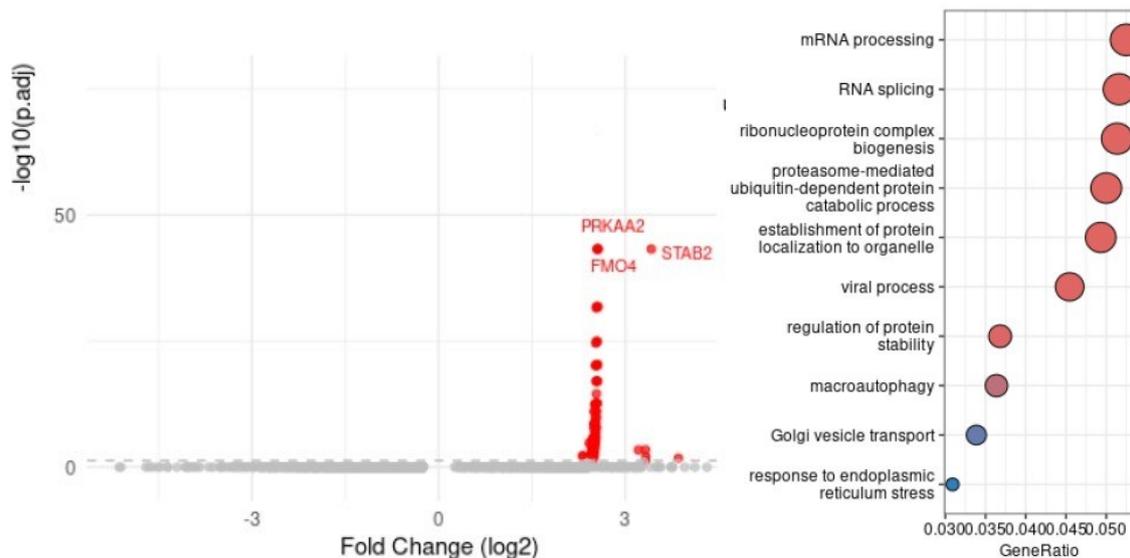
Um fator crítico no processo de angiogênese é o VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular). Quando liberado em excesso pelas células tumorais, o VEGF aumenta a permeabilidade vascular e a pressão osmótica no microambiente, resultando em alterações na organização e integridade do epitélio vascular (Carmeliet, 2005).

Essa desorganização cria regiões heterogêneas no tumor, onde os níveis de oxigênio são irregulares, resultando em uma distribuição desigual de nutrientes em certas áreas. Esse fenômeno leva à formação de áreas caracterizadas por necrose e ativação de mecanismos de adaptação metabólica (Dagogo-Jack; Shaw, 2018).

As células tumorais e as células do sistema imune se adaptam à hipóxia por meio de alterações metabólicas. Elas frequentemente passam a depender mais da glicólise, um processo metabólico que não requer oxigênio, do que da respiração celular para obter energia, em um fenômeno conhecido como "efeito Warburg" (Liberti; Locasale, 2016).

Além disso, regiões com hipóxia contribuem para a instabilidade genômica, resultando em alterações na expressão de genes que favorecem a adaptação evolutiva do tumor, promovendo a manutenção do microambiente tumoral. Esses processos são elementos cruciais a serem considerados no entendimento da biologia tumoral e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas (Muz *et al.*, 2015).

Figura 16 – Genes diferencialmente expressos por células endoteliais na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

O gene *STAB2* é responsável por sintetizar uma proteína denominada estabilina2, que tem participação de processos de endocitose e captura de macromoléculas, como as proteínas e resíduos de glicogênio. Mesmo que sua expressão elevada não seja tipicamente correlacionada ao câncer, essa proteína também é responsável pela angiogênese, recrutamento de linfócitos e facilitação de adesão celular (Roy *et al.*, 2020).

Já o gene *FMO4* participa de processos relacionados ao metabolismo oxidativo de xenobióticos como as drogas e pesticidas, através da catálise de heteroátomos nucleofílicos presentes nas estruturas químicas dessas substâncias. Essas reações ocorrem pela atividade da enzima monooxigenase 4, responsável por manter o equilíbrio dos níveis dos compostos tóxicos. Quando essa enzima apresenta defeitos, isso resulta no aumento de substâncias nocivas às células presentes no microambiente em que estão inseridas (Luo *et al.*, 2022).

O gene *PRKAA2* sintetiza uma subunidade da proteína quinase dependente de AMP cíclico (AMPK), enzima crucial para o metabolismo celular. Quando os níveis energéticos estão reduzidos, a enzima é ativada e favorece a formação de ATP através do aumento da captação e disponibilidade de fontes energéticas, como os lipídios. Além disso é relacionada ao processo de autofagia celular, processo

caracterizado pela degradação e utilização de células ou componentes celulares que estão danificados ou que perderam a capacidade funcional (Kim *et al.*, 2012).

A partir da análise de ontologia, foi possível identificar que o processo de autofagia ocorre pela ação de mais de um gene, sendo que esse fenômeno comumente é relacionado ao início do desenvolvimento tumoral, assim como mecanismos de supressão do sistema imune. Além disso, esse processo é presente em estágios avançados do câncer, como as metástases, favorecendo a sobrevivência das células tumorais pelo aumento da disponibilidade de fragmentos celulares derivados de células disfuncionais (Bhutia *et al.*, 2013).

### **5.2.8 Células dendríticas de origem mieloide(mDC)**

As células dendríticas (DC) desempenham um papel central como células apresentadoras de antígenos e são essenciais para a regulação da resposta imune adaptativa. Originadas das células-tronco CD34+ da medula óssea, essas células altamente heterogêneas compartilham características morfológicas e funcionais comuns, embora apresentem uma notável plasticidade (Banchereau; Steinman, 1998).

O desenvolvimento das células dendríticas ocorre em dois estágios distintos: células imaturas, predominantemente presentes nos tecidos periféricos e especializadas na captação e processamento de antígenos, e células maduras, localizadas nos órgãos linfoides, onde interagem com células T específicas, desencadeando a resposta imune (Dudek *et al.*, 2013).

É relevante destacar que os receptores de superfície diferem entre as células imaturas e maduras, sendo um dos principais determinantes da migração dessas células para diferentes tecidos, dependendo dos estímulos recebidos (Leblanc-Hotte *et al.*, 2023).

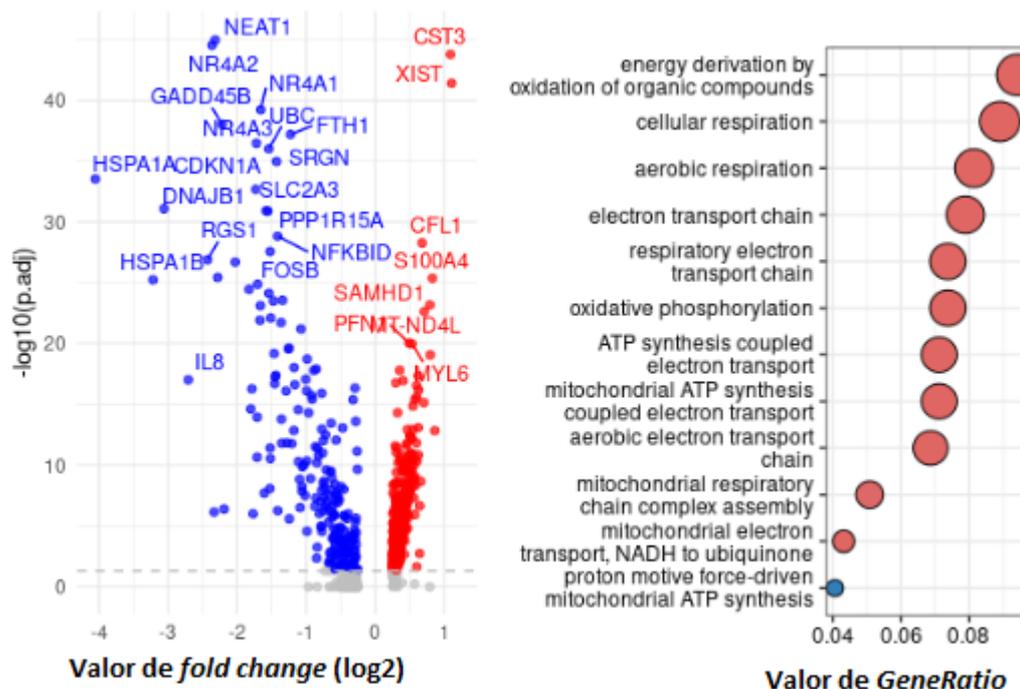
Existem duas principais populações de células dendríticas maduras: células dendríticas mieloides (mDC) e células dendríticas plasmocitoides (pDC). As mDC, originadas de células progenitoras mieloides, compartilham marcadores de superfície como CD11c, CD33 e expressam diferentes receptores Toll-like, como TLR1 e TLR2. Até recentemente, acreditava-se que as células dendríticas eram exclusivamente imunogênicas, mas estudos recentes indicam uma dualidade, com capacidade

supressora da resposta imune, influenciando o comportamento de outros tipos celulares (Fricke; Gabrilovich, 2006).

Essa dualidade é especialmente evidente no microambiente tumoral, onde as células dendríticas desempenham um papel regulatório crucial. Esse comportamento atípico é influenciado por diversos mecanismos de regulação presentes no microambiente, resultando em alterações no recrutamento, diferenciação, maturação e sobrevivência das células dendríticas (Ma *et al.*, 2013).

Fatores e citocinas específicos contribuem para esse comportamento, impactando o papel das células dendríticas no contexto tumoral e destacando a complexidade da regulação imunológica nesse ambiente específico (Haas; Obenauf, 2019).

Figura 17 – Genes diferencialmente expressos por células dendríticas de origem mielóide(mDC) na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Entre os genes mais expressos se destaca o gene *CFL1*, que desempenha um papel importante na morfologia celular e organização do citoesqueleto em células epiteliais. Também tem participação na ativação do receptor *ACKR2*, que apresenta uma grande capacidade de se ligar a diversos tipos de citocinas, sendo responsável

pela inflamação crônica, principalmente no contexto pulmonar de metástases pulmonares (Castro *et al.*, 2010).

Além disso, o gene *S100A4* se relaciona com o processo de motilidade celular, angiogênese, diferenciação celular, apoptose e autofagia. O aumento da expressão desse gene também está relacionado com o processo de formação e estabelecimento de novas metástases (Fei *et al.*, 2017).

Outro gene expresso relevante é o *SAMHD1*. A proteína codificada por ele, quando aumentada, está envolvida na mediação do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa). O TNF é capaz de causar erosões ósseas por diversos mecanismos. Um deles se associa a diferenciação e maturação dos osteoclastos, aumento a reabsorção óssea e fragilizando os ossos que sofrem com metástases dessa natureza (Schott *et al.*, 2022).

O gene *MYL6*, embora seja relacionado com a síntese uma proteína leve que forma a miosina, importante nos processos de contração muscular, também desempenha papel na movimentação e divisão celular, assim como no transporte de moléculas no ambiente intracelular (Xie *et al.*, 2018).

Num contexto geral, de acordo com a análise de ontologia, uma grande parte dos genes atua na respiração celular, seja pela geração de energia a partir da degradação de compostos orgânicos, seja por mecanismos relacionados ao transporte de elétrons.

### **5.2.9 Células dendríticas plasmocitoides(pDC)**

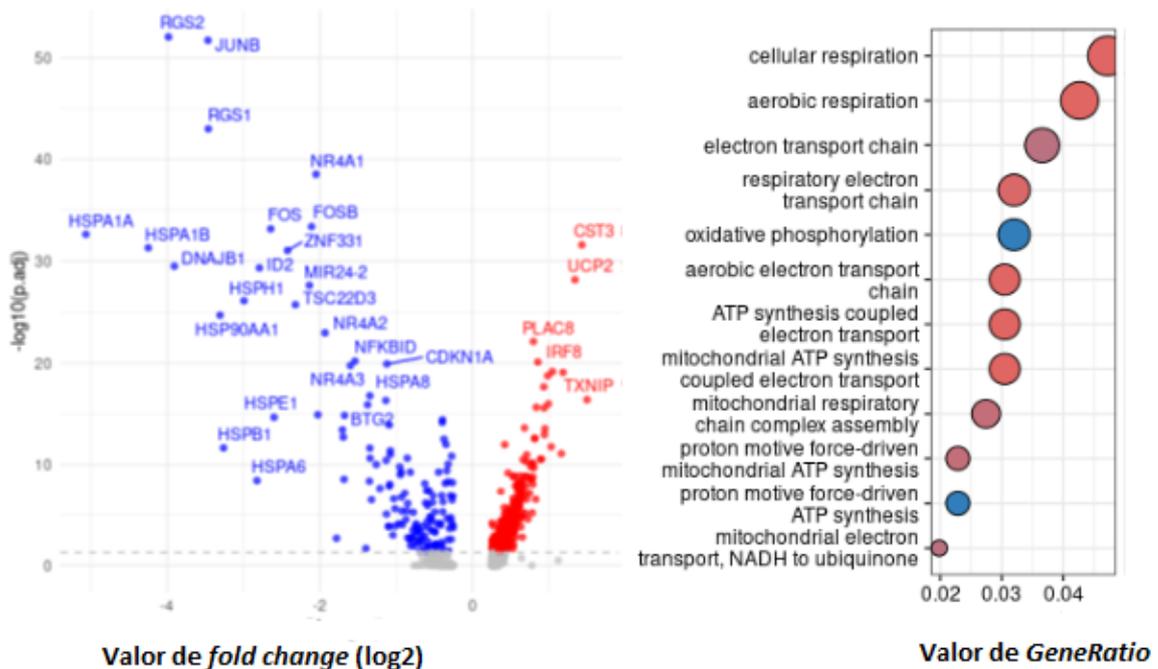
As células dendríticas plasmocitoides (*pDC*) desempenham um papel significativo tanto na resposta imune inata quanto adaptativa. No entanto, sua presença no microambiente tumoral pode estar associada tanto à melhora quanto à piora do prognóstico em vários tipos de câncer. Indicações sugerem que o ambiente específico é crucial para determinar se as *pDC* desempenharão um papel na promoção da imunidade ativa ou na tolerância imunológica (Ye *et al.*, 2020).

Assim, as *pDC* também apresentam uma dualidade notável: em resposta a citocinas e fatores derivados das células tumorais e do microambiente tumoral, elas podem adotar um fenótipo tolerante. No entanto, quando estão plenamente funcionais, as *pDC* são capazes de exibir respostas antitumorais por meio de sua capacidade

única de apresentação de antígenos e mecanismos de citotoxicidade (Zhou; Lawrence; Liang, 2021).

Essa capacidade de se adaptar ao microambiente tumoral destaca a complexidade do papel das *pDC* na resposta imune contra o câncer.

Figura 18 – Genes expressos por células dendríticas de origem plasmocitoide (*pDC*) na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

O gene *IRF8* participa da sinalização por interferon gama e citocinas no sistema imune. É um dos principais genes responsáveis pela maturação das células dendríticas, macrófagos e monócitos. Além disso atua na captura, processamento e apresentação de antígenos, ativando essas células (Schiavoni; Gabriele; Mattei, 2013).

Outro gene importante é o *TXNIP*, responsável pela síntese de uma proteína capaz de inibir a atividade da tioredoxina. A tioredoxina, por sua vez, é responsável por atuar nas reações redox no organismo, prevenindo o acúmulo de espécies reativas de oxigênio e o subsequente estresse celular (Deng *et al.*, 2023).

Já o gene *PLAC8* está relacionado ao desenvolvimento da placenta durante a gravidez. Por mais que não seja um gene comumente relacionado ao

desenvolvimento tumoral, há indícios que ele atua em vias responsáveis pelo crescimento e diferenciação de algumas linhagens celulares (Mao *et al.*, 2021).

De acordo com a análise de ontologia os genes mais expressos estão relacionados a processos de respiração celular. Além disso, foi identificado que grande parte deles atua na síntese de ATP na mitocôndria, principalmente pelo deslocamento de prótons e elétrons.

#### **5.2.10 Células natural killer ou NK**

As células *natural killer* (NK) desempenham um papel crucial no sistema imunológico inato, exercendo atividade citotóxica contra células defeituosas, incluindo células tumorais ou infectadas. Elas apresentam uma ampla distribuição nos tecidos e uma notável variabilidade fenotípica, expressando receptores ativadores e inibidores que reconhecem a expressão alterada de proteínas nas células-alvo (Vivier *et al.*, 2008).

No contexto da imunidade antitumoral, as células NK são fundamentais devido à sua capacidade citotóxica potente contra células cancerígenas. No entanto, quando expostas às células tumorais e ao microambiente tumoral (TME), sua efetividade pode ser comprometida, resultando em disfunção (Larsen; Gao; Basse, 2014).

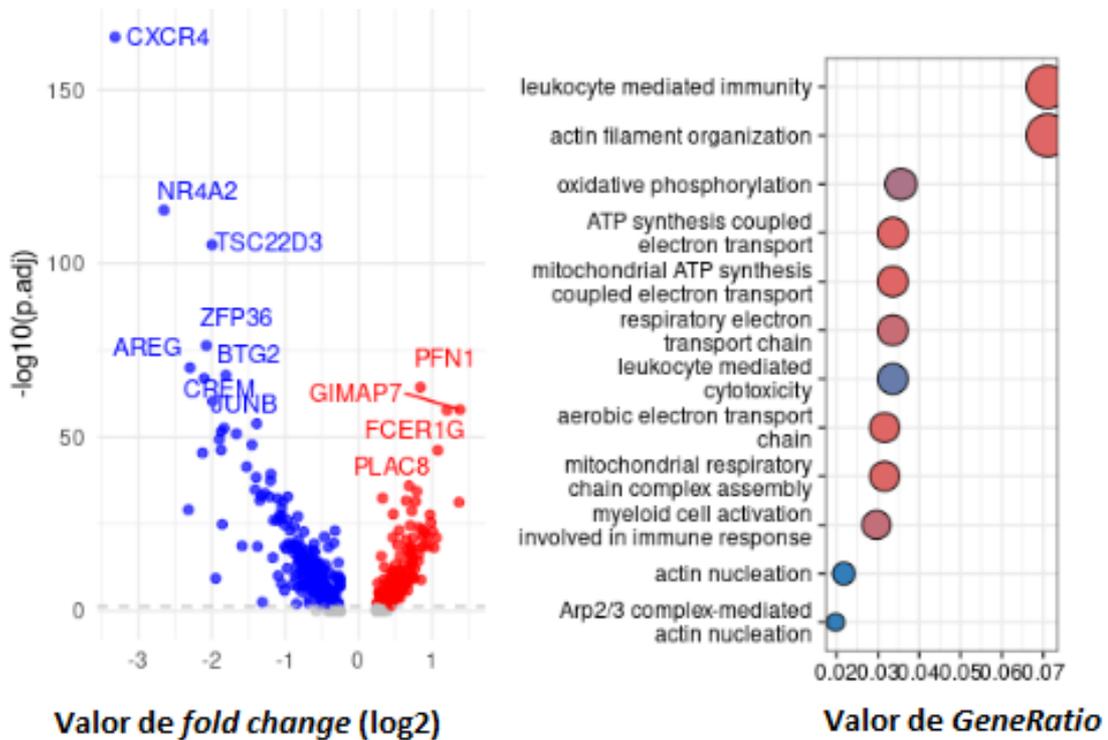
Células NK disfuncionais se caracterizam por uma secreção deficiente de citocinas efetoras e uma capacidade reduzida de destruir células malignas. Diversos mecanismos celulares e ambientais estão associados a essa disfunção, desde a inibição do recrutamento para o TME até a ativação de processos inibitórios, supressão de sinais de ativação e desregulação do metabolismo, como hipóxia e acúmulo de lactato (Melaiu *et al.*, 2020).

Condições típicas do TME, como hipóxia, pH reduzido, privação de glicose e acúmulo de lactato, contribuem para a inibição da atividade citotóxica das células NK e podem induzir a apoptose. Além disso, fatores liberados por células imunológicas, tumorais e estromais, como o fator de crescimento transformador (TGF)- $\beta$ , adenosina e prostaglandina E2 (PGE2), inibem a atividade das células NK, convertendo-as para um fenótipo não citotóxico (Garofalo; De Marco; Cristiani, 2021).

O desequilíbrio nos níveis de proteínas de checkpoint imunológico no microambiente tumoral também contribui para o estado de esgotamento das células NK. O recrutamento e infiltração dessas células no local do tumor também são inibidos

por alterações na rigidez da matriz extracelular e pela presença exacerbada de diversas citocinas que promovem a disfunção da resposta imune local (Stirling *et al.*, 2022).

Figura 19 – Genes diferencialmente expressos por células natural killer (NK) na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Dentre os genes mais expressos na porção tumoral podemos identificar o gene *PFN1*, *GIMAP7*, *FCER1G* e *PLAC8*.

O gene *PFN1* atua na polimerização da actina em resposta à estímulos externos. Mutações nesse gene estão relacionadas à doença Esclerose Lateral Amiotrófica. Além disso, esse gene participa de várias outras funções celulares, controlando a endocitose, ciclo celular, motilidade, proliferação e transcrição gênica (Wieghaus *et al.*, 2009).

Já o gene *FCER1G* atua em vias relacionadas com a síntese dos receptores IgE, envolvidos em reações alérgicas. Além disso tem participação do controle de algumas vias do sistema imune inato, como a via PAK-2p34, uma das vias que controla a morte celular pela ativação de PAK-2 (Yang *et al.*, 2023).

A via da PAK é um sistema complexo e está relacionado com processos de regulação do metabolismo energético, angiogênese, motilidade celular direcionada, além de diferenciação e desenvolvimento celular (Ye; Field, 2012).

Outro gene relevante é o *GIMAP7*, pois atua na síntese de uma proteína do tipo GTPase relacionada à ativação dos linfócitos T e B. Quando apresenta mutações, a atividade linfocitária é comprometida, resultando na sua inativação ou ativação defeituosa, resultando no surgimento de mecanismos que favorecem a proliferação acentuada de diversas populações celulares (Qin *et al.*, 2022).

O gene *PLAC8* participa da termogênese e regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase 2. Em tumores pulmonares, por exemplo, a expressão acentuada desse gene foi associada à um pior prognóstico clínico, pois resulta no crescimento das células tumorais através da sinalização que ocorre pela via WNT/beta-catetenina (Mao *et al.*, 2021).

A via WNT/beta-catetenina também atua em vias relacionadas ao crescimento, maturação e migração de diversos grupos celulares, principalmente os que são derivados de células tronco hematopoiéticas da medula óssea (Liu *et al.*, 2022).

De acordo com a análise de ontologia, diversos genes participam dos processos de organização de filamentos de actina, principalmente pela modulação do complexo formado por Arp2/3.

Esse complexo é de crucial importância na regulação da dinâmica do citoesqueleto, uma rede de filamentos proteicos no interior das células que mantém sua forma e está envolvida em vários processos celulares, como a motilidade celular, a divisão celular e a formação de estruturas celulares especializadas e organizadas (Goley; Welch, 2006).

Outros processos também são observados, como a ativação de células mieloides envolvidas no sistema imune, assim como a imunidade mediada por leucócitos.

### **5.2.11 Células natural killer do tipo T**

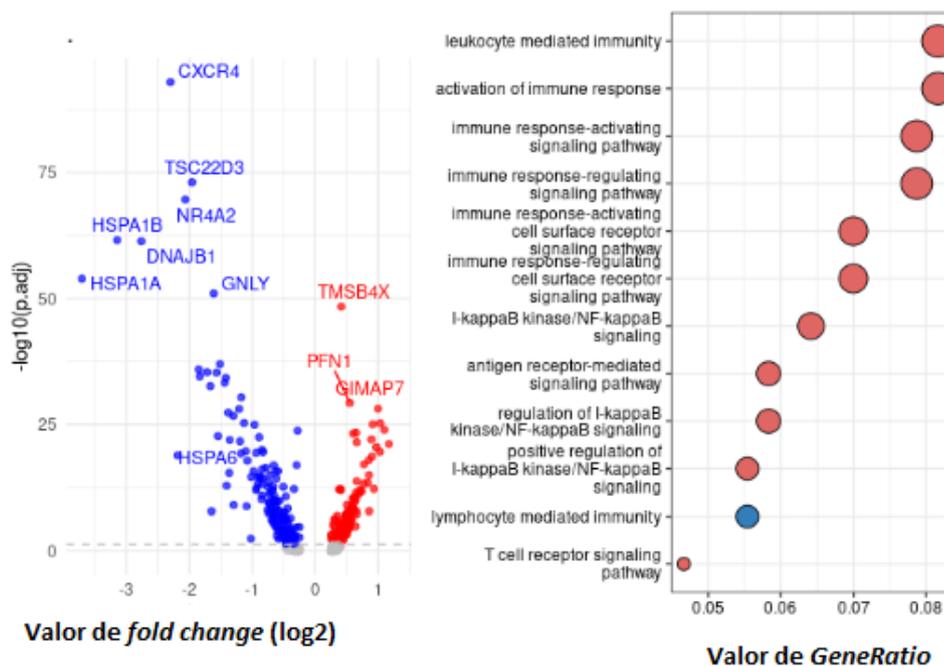
As células *natural killer* do tipo T (*NKT*) são uma subpopulação especializada de linfócitos T que desempenham um papel crucial na interação entre o sistema imunológico inato e adaptativo. Essas células contêm RNAs mensageiros

responsáveis pela produção de citocinas, como IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 e IL-13, sintetizadas em resposta a moléculas sinalizadoras recebidas de outras células (Wu; Van Kaer, 2011).

Diferenciando-se dos linfócitos T convencionais, as células NKT possuem receptores capazes de reconhecer componentes lipídicos apresentados por uma molécula não clássica semelhante ao MHC I, denominada CD1d. Além disso, têm a capacidade única de estabelecer uma ligação entre os sistemas imunológicos inato e adaptativo, desempenhando um papel crucial na imunidade antitumoral (Pei *et al.*, 2023).

As funções antitumorais das células NKT do tipo I dependem principalmente de sua capacidade de secretar citocinas Th1, como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Além disso, as células NKT podem secretar grânulos que induzem a lise de células tumorais expressando CD1d. No entanto, é importante relatar que muitos tumores suprimem a expressão de CD1d em estágios clinicamente detectáveis, o que pode contribuir para a evasão dos mecanismos de imuno vigilância mediados por células NKT (Nair; Dhodapkar, 2017).

Figura 20 – Genes diferencialmente expressos por células natural killer do tipo T (NKT) na fração tumoral e análise de ontologia



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Legenda: Em vermelho, estão representados os genes com expressão aumentada e em azul estão representados os genes com expressão reduzida.

Dentro os genes com expressão mais significativa estão *TMSB4X*, *PNF1* e *GIMAP7*.

O gene *TMSB4X* codifica a proteína timosina-beta 4, que participa de processos de formação e organização do citoesqueleto de actina, fundamental para a organização e motilidade celular. Além disso, essa proteína pode ser relacionada com a migração de células, assim como o processo de angiogênese. A expressão elevada desse gene em alguns tipos de câncer, como o câncer de mama, pulmão e colorretal, pode ser um marcador importante na avaliação da agressividade desses tipos de tumores (Kuo *et al.*, 2022).

O gene *TMSB4X* também está relacionado com a proliferação celular, migração e diferenciação. Também atua no processo de polimerização de actina. Alguns estudos reportam que o gene pode ser um potencial marcador na malignidade e prognóstico em carcinoma hepatocelular, por exemplo (Yang *et al.*, 2023).

Outro gene com atividade relevante é o *PNF1*, pois também sintetiza proteínas relacionadas a estruturação de actina, dependendo dos estímulos externos que está sob influência. Os filamentos de actina favorecem processos de migração e mobilização celular (Suresh; Diaz, 2021).

Já o gene *GIMAP7*, um dos membros da família de genes *GIMAP*, sintetiza proteínas que fazem parte da superfamília de ligantes do GTP. Além disso, algumas dessas proteínas sintetizadas por ele são reguladas negativamente durante a leucemia linfocítica aguda. Durante o desenvolvimento do timo, estima-se que também pode ter participação da regulação do processo de apoptose (Huo *et al.*, 2022).

Os processos biológicos mais evidentes de acordo com a análise de ontologia mostram que a maior parte dos genes atua em vias de sinalização do sistema imune, tanto em monócitos como em linfócitos.

Além disso, alguns genes participam da via de sinalização do NF-kappaB, umas das vias que, quando tem sua ativação inadequada ou desregulada, resulta em consequências que favorecem a progressão tumoral (Liu *et al.*, 2017).

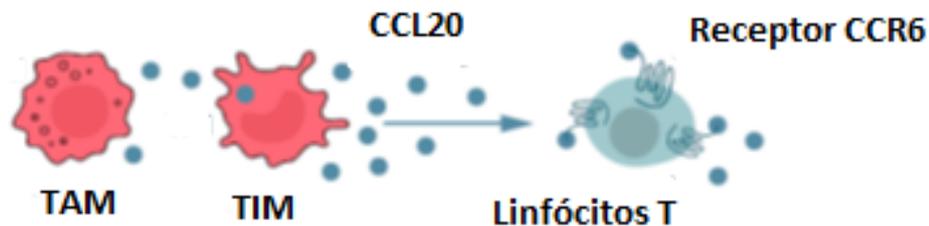
Entre as consequências resultantes da ativação intermitente dessa via podemos citar a regulação acentuada de genes que favorecem a sobrevivência, impedindo a morte das células tumorais. Genes que promovem a resposta inflamatória também têm sua expressão favorecida, permitindo o estabelecimento da inflamação

crônica, bem como o estímulo de vias que favorecem a invasão e migração celular (Lin *et al.*, 2010).

### 5.3 ANÁLISE DAS REDES DE COMUNICAÇÃO CELULAR UTILIZANDO O CELLCOMM

Na publicação original, da qual os dados de *single-cell* foram extraídos, Kfoury e colaboradores identificaram uma via de sinalização celular que conecta a citocina CCL20, expressa por Monócitos Inflamatórios no Tumor (TIM) e Macrófagos Associados ao Tumor (TAM), ao receptor CCR6 localizado na superfície celular de linfócitos T (Kfoury *et al.*, 2021).

Figura 21 – Representação do ligante CCL20, expresso por TIM e TAM, e sua interação com o receptor CCR6 presente em linfócitos T



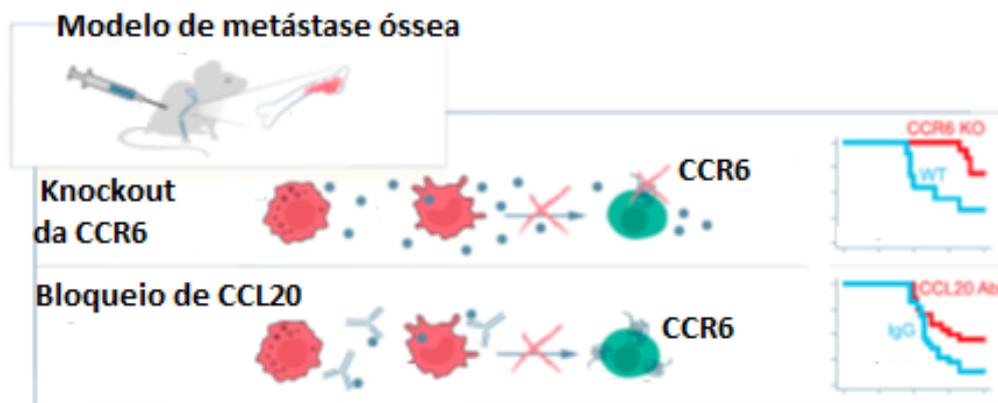
Fonte: Kfoury *et al.* (2021).

De acordo com os autores, a interação CCL20/CCR6 pode ser um dos fatores contribuintes para o processo de exaustão de linfócitos T no microambiente tumoral, levando à disfunção e favorecendo a manutenção do estado de imunossupressão. Para investigar essa via, eles conduziram experimentos para avaliar se modificações nessa interação poderiam alterar a dinâmica do microambiente e aumentar a sobrevida (Kfoury *et al.*, 2021).

Em experimentos com animais, estabeleceu-se um modelo para desenvolver metástases ósseas em camundongos, possibilitando a observação *in vivo* da atividade da via de sinalização. No primeiro experimento, o receptor CCR6 passou por um knockout, resultando em sua inativação. Os resultados revelaram um aumento significativo na sobrevida desses camundongos em comparação com o grupo controle, no qual o receptor não foi inativado (Kfoury *et al.*, 2021).

No segundo experimento, o ligante CCL20 foi bloqueado utilizando um anticorpo específico, impedindo sua ligação ao receptor CCR6. Similarmente ao primeiro experimento, observou-se uma maior sobrevivência nos camundongos nos quais o ligante foi bloqueado em comparação com os camundongos controle, nos quais não houve bloqueio de CCL20 (Kfoury *et al.*, 2021).

Figura 22 – Representação do modelo experimental proposto por Kfoury e colaboradores



Fonte: Kfoury *et al.* (2021).

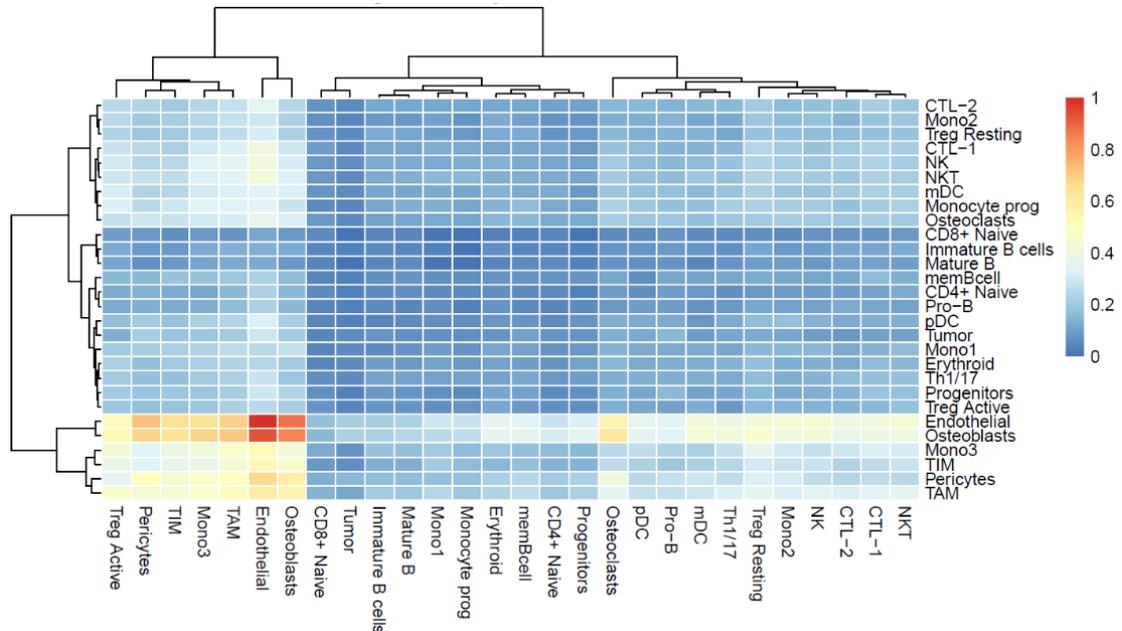
Legenda: O knockout do receptor CCR6 resultou no aumento da sobrevivência dos animais quando comparado ao receptor ativo. Em outro experimento, o bloqueio do ligante CCL20 também resultou no aumento da sobrevivência dos animais.

Apesar da significativa importância identificada pelos autores para a via de sinalização CCL20/CCR6, é crucial reconhecer que o microambiente tumoral abrange uma ampla variedade de vias de comunicação. Essas vias envolvem diversos grupos celulares que vão além dos monócitos e macrófagos. Portanto, por meio da utilização do *CellComm*, o objetivo foi não apenas identificar novas redes de sinalização celular relacionadas a esses grupos celulares principais, mas também identificar vias associadas às células tumorais, células NK, osteoblastos e osteoclastos. Esse enfoque busca proporcionar um panorama mais abrangente do microambiente tumoral.

A partir de um *heatmap* como o que está representado na figura 35, é possível estabelecer prioridades entre os grupos celulares selecionados para análises mais detalhadas. As interações em azul indicam que há menos pares de ligantes-receptores, enquanto as interações em laranja e vermelho indicam um maior número de pares de ligantes-receptores. No entanto, é crucial ressaltar que essa abordagem

não restringe a utilidade do *CellComm*, pois cabe ao indivíduo conduzir as análises de maneira a visualizar as interações que respondam às suas questões biológicas específicas e/ou que sejam de sua prioridade.

Figura 23 – Heatmap para as comunicações celulares da porção tumoral

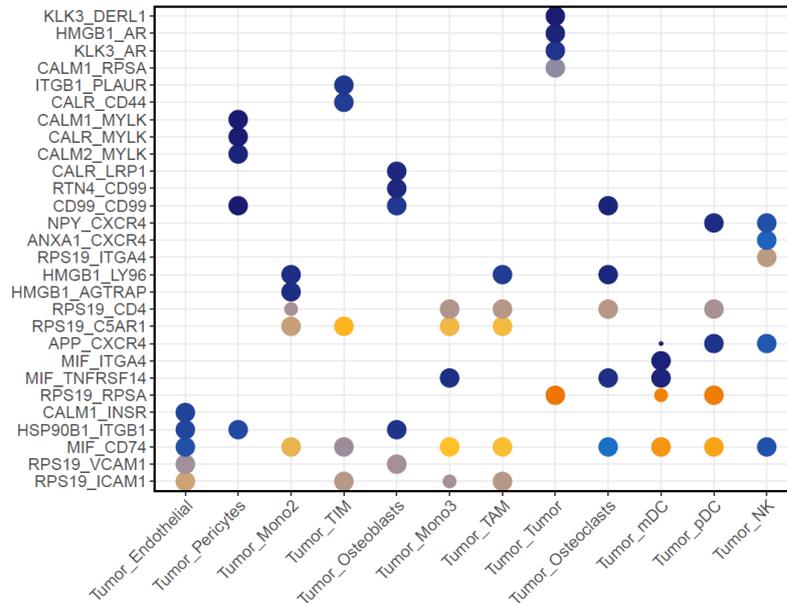


Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Além disso, para facilitar a interpretação das imagens a seguir é importante ressaltar alguns detalhes. No eixo X estão representados os pares de células que estabelecem alguma comunicação celular. A primeira célula do par é aquela que envia uma molécula sinalizadora; e a segunda célula do par é quem recebe. Já no eixo Y, estão representados os principais pares de ligantes e receptores. Seguindo o raciocínio, a primeira molécula corresponde ao ligante; sendo que a segunda molécula do par corresponde ao receptor.

### 5.3.1 Vias de comunicação celular mais evidentes nas células tumorais

Figura 24 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nas células tumorais



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Dentre os ligantes identificados e que são importantes no contexto em questão, está o MIF, uma citocina expressa por células tumorais relacionadas à diversos tipos de câncer. Tem importante papel na estimulação da expressão de outras citocinas envolvidas no processo de inflamação. De acordo com a literatura, esse ligante tem como receptores alvos principais o CXCR2 e CXCR4, promovendo o recrutamento de células inflamatórias. Além disso, alguns estudos relacionam a atividade do MIF com a ativação conjunta das vias de CXR2 e CD74, indicando que ambas as vias têm papel significativo no estabelecimento do processo inflamatório, novas metástases e quimiotaxia (Jankauskas *et al.*, 2019).

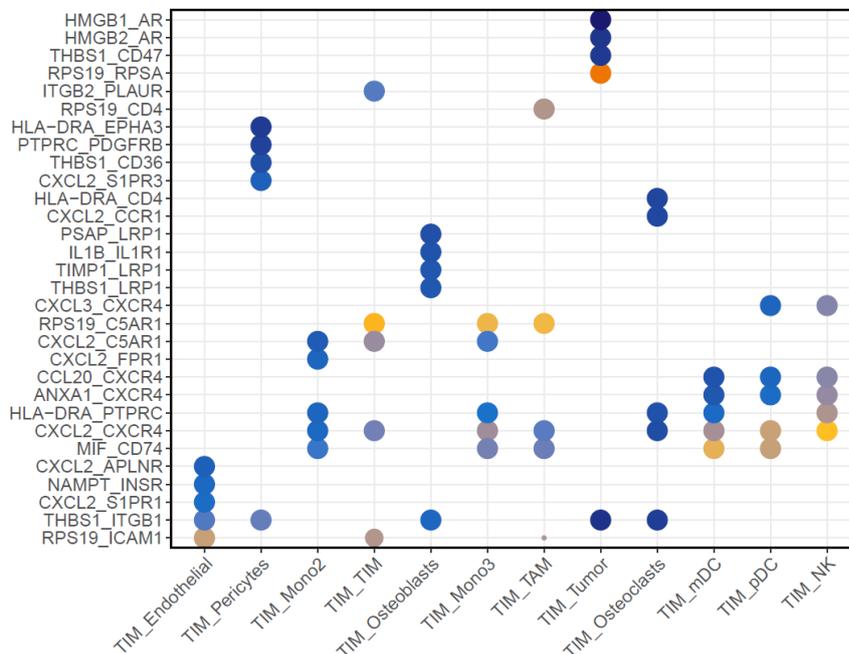
Outro ligante importante é o RPS19, uma citocina que atua na síntese de proteínas ribossomais. Segundo alguns estudos, essa citocina, quando elevada, pôde ser relacionada com uma taxa aumentada de crescimento tumoral, assim como um aumento da imunidade antitumoral. Além disso, em ensaios em camundongos, foi possível observar que níveis reduzidos dessa citocina são relacionados com um aumento na quantidade das células CD8+, CD4+ e células dendríticas, indicando que tem papel crucial em vias que controlam a apresentação de antígenos (An *et al.*, 2021).

Os ligantes CALM1 e CALM2 são sintetizados pela família de genes CALM e, quando apresentam expressão elevada, são relacionados com estágio avançados do câncer e prognóstico desfavorável. Além disso, em neuroblastoma, a atividade desse gene está intimamente relacionada à agressividade desse tipo de tumor, principalmente por favorecer mecanismos de invasão celular (Liu *et al.*, 2021).

Já o ligante APP, tem relação com processos que favorecem a sobrevivência, adesão, diferenciação e migração celular. Comumente é relacionada à atividade de células neuronais, porém a sua expressão aumentada também se relaciona a outros tipos celulares e tipos de câncer, como mama e próstata (Lee; Na; Choi, 2021).

### 5.3.2 Vias de comunicação celular mais evidentes para os TIM

Figura 25 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos TIM



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

Um dos ligantes identificados aqui, o CXCL2, tem envolvimento no estabelecimento do processo inflamatório. Além disso, sua expressão está associada à angiogênese e crescimento tumoral. No melanoma, por exemplo, concentradas elevadas de CXCL2 foram diretamente relacionadas com a agressividade do tumor, sendo um dos principais fatores que ditam o prognóstico da doença (Shi; Riese; Shen, 2020).

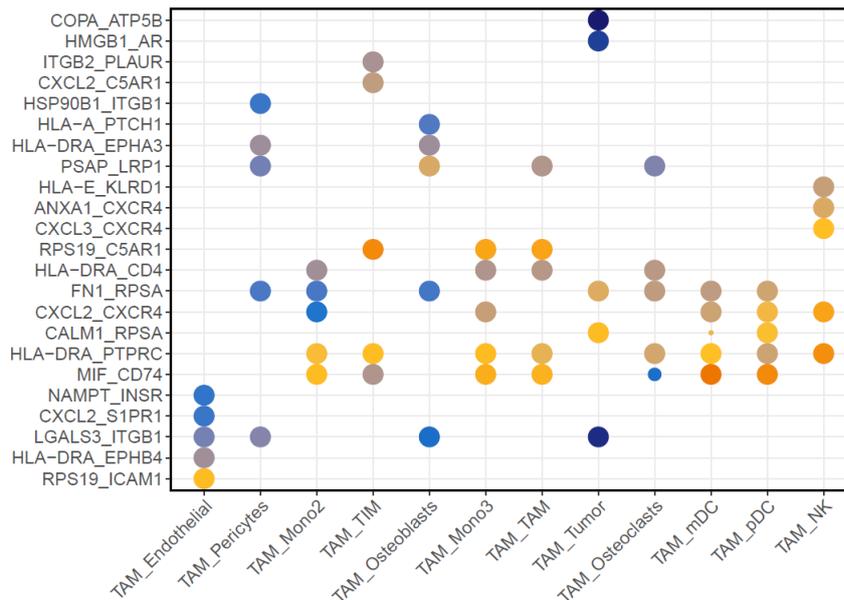
O ligante CCL20, relatado pelos autores do artigo de referência, também foi identificado aqui, porém sob ação no receptor CXCR4. Esse receptor tem sua expressão aumentada em células tumorais quando comparado às células saudáveis (Chatterjee; Behnam Azad; Nimmagadda, 2014).

Além disso, a ativação dele pode ser relacionada à progressão do tumor, bem como em processos de diferenciação e migração de células hematopoiéticas (Xu *et al.*, 2015).

Também podemos citar a presença dos ligantes HMGB1 e HMBG2, principalmente em vias relacionadas às células tumorais. Quando estão presentes no ambiente intracelular, são capazes de se ligar ao DNA e controlar alguns mecanismos transcricionais e replicação do DNA. Além disso são encontrados no meio extracelular, derivados principalmente de células que sofreram necrose e/ou que se encontram em estado de estresse (Qiu *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2020).

### 5.3.3 Vias de comunicação celular mais evidentes para os TAM

Figura 26 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos TAM



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

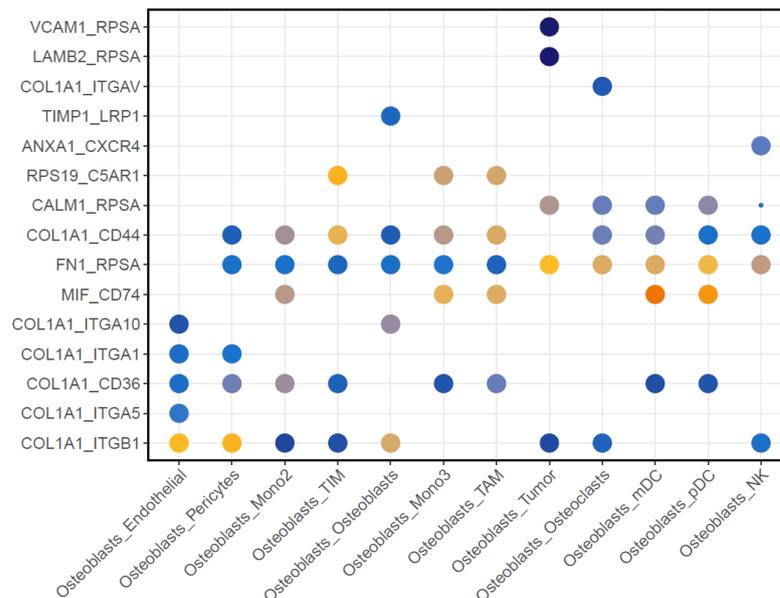
O ligante FN1, segundo a literatura, tem como papel o estabelecimento e progressão tumoral. Além disso, sua expressão tem relação com o processo de infiltração de macrófagos do tipo M2 no microambiente tumoral, sendo que esse

fenótipo é caracterizado pela capacidade de promover imunossupressão, angiogênese e progressão tumoral (Sun *et al.*, 2020).

Outro ligante encontrado que possui relevância é o PSAP, pois pode ser relacionado proliferação celular, formação de tumores e processos de formação de metástases. Em alguns estudos que realizaram análises *in silico* para investigar a atividade de PSAP, foi possível correlacionar uma expressão elevada do ligante ao prognóstico desfavorável (Miyahara *et al.*, 2022).

### 5.3.4 Vias de comunicação celular mais evidentes para os osteoblastos

Figura 27 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos osteoblastos



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

O ligante COL1A1 é altamente expresso em diversos tipos de tumores, além de desempenhar processos biológicos variados. Ele atua na proliferação celular, estabelecimento de metástases e resistência a um dos fármacos mais utilizados, a cisplatina. Dessa maneira, é um dos principais marcadores no prognóstico da doença. Além disso, sua atividade pode relacionado com receptores diversos, como o receptor CD36, ITGAR5 e ITGB1 (Liu *et al.*, 2017).

Já o ligante VCAM1 é um importante fator de adesão celular, relacionado a diversos tipos de tumor, como câncer de mama e melanoma. Quando elevado, pode favorecer processos de migração que ocorre através do endotélio, caracterizado pela migração de células de um tecido para a corrente sanguínea. Além disso, como pode

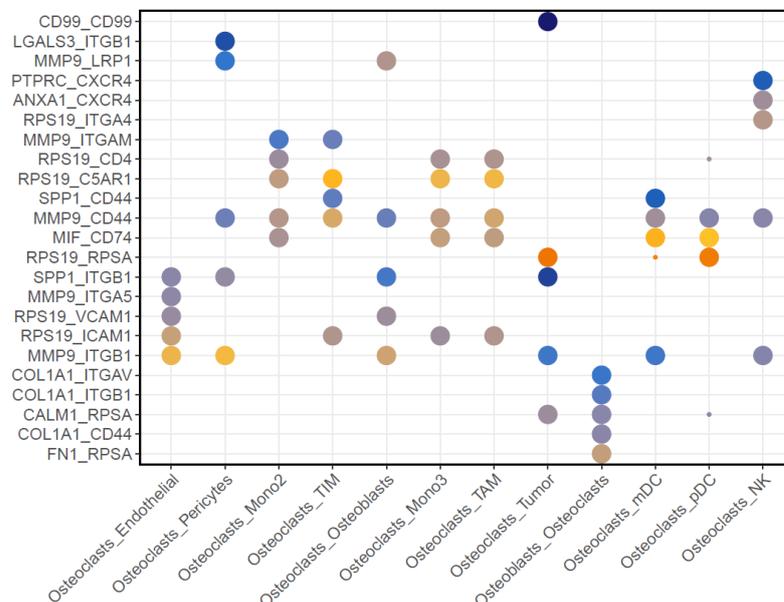
ser expresso por células tumorais, favorece o estabelecimento do microambiente tumoral através do recrutamento de monócitos e macrófagos para o local (Zhou *et al.*, 2020).

Assim como os dois ligantes apresentados anteriormente, o ligante TIMP1 também é relacionado com processo de metástases. Por mais que ainda não se tenha clareza dos mecanismos celulares que exerce, sua expressão elevada também resulta em processos inflamatórios (Pietrzak *et al.*, 2023).

Ligantes como o MIF, FN1 e RPS19 também foram identificados na análise, indicando que são amplamente expressos por tipos celulares variados.

### 5.3.5 Vias de comunicação celular mais evidentes para os osteoclastos

Figura 28 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nos osteoclastos



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

O ligante MMP9 é responsável por regular processos de migração celular e angiogênese no microambiente tumoral. De acordo com estudos recentes, a modulação dele é pouco elucidada e tem como limitação o fato de possuir homologia com outros ligantes da família MMP (Huang, 2018).

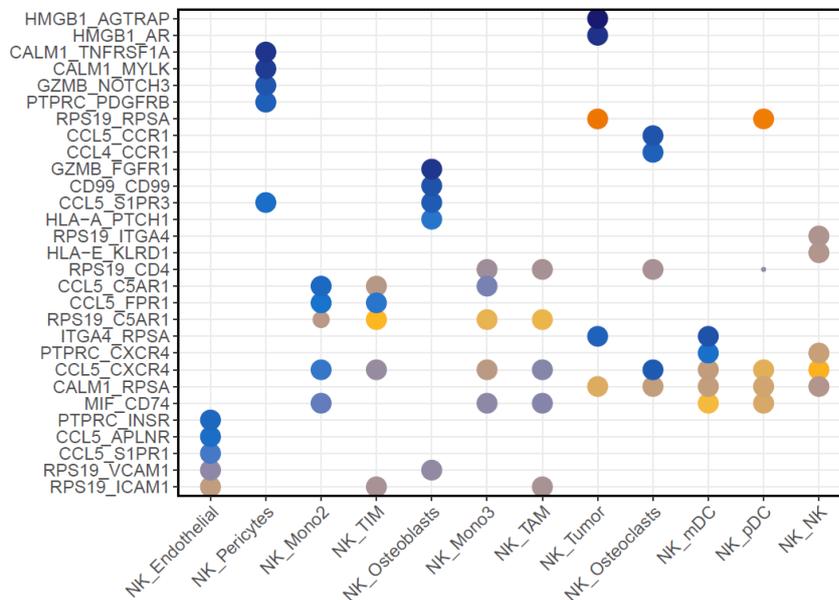
Como alternativas para contornar essas limitações, se faz necessário identificar quais os receptores que apresentam afinidade por MMP9 e quais as consequências da ativação deles. Conforme foi constatado nessa análise, os principais receptores foram ITGB1, ITGAM, LRP1 e CD44.

Outra citocina importante é a SPP1, conhecida como osteopontina. Ela é responsável por regular a atividade dos osteoblastos e osteoclastos, permitindo a ação de equilíbrio entre eles (Tang *et al.*, 2021).

Entretanto, quando essa proteína tem seus níveis elevados, principalmente em resposta ao processo de inflamação, ela altera a dinâmica do metabolismo ósseo, facilitando a progressão tumoral por diversos mecanismos. Um desses mecanismos se relaciona com a sua capacidade de regular a atividade das células do sistema imune, favorecendo imunossupressão e formação de novas metástases, por exemplo (Zhao *et al.*, 2018).

### 5.3.6 Vias de comunicação celular mais evidentes para as células NK

Figura 29 – Pares de ligantes e receptores mais evidentes nas células NK



Fonte: elaborada pelo autor (2023).

O ligante CCL5 é uma das citocinas que mais se tem conhecimento sobre seu papel no microambiente tumoral (Aldinucci; Borghese; Casagrande, 2020). Essa citocina é sintetizada principalmente pelos monócitos e macrófagos, estando relacionada com os processos de crescimento tumoral, estabelecimento de metástases, resistência farmacológica, reprogramação metabólica, entre outros (Aldinucci; Colombatti, 2014).

O eixo de sinalização mais frequente do CCL5 está relacionado com o receptor CCR5, formando o complexo CCL5/CCR5, porém nessa análise outros receptores também foram identificados, como o CCR1 e CXCR4 (Singh *et al.*, 2018). Dessa forma, a CCL5 tem propriedades quimiotáticas, pois promove a migração de células imunes durante o processo de inflamação, assim como ocorre no microambiente tumoral (Huang *et al.*, 2023).

Além disso, é importante citar que a produção de CCL5 é induzida pela ação das diversas citocinas com propriedades inflamatórias, favorecendo ainda mais o estabelecimento do quadro inflamatório presente no microambiente tumoral (Melese *et al.*, 2021).

Outros ligantes já citados anteriormente também estão presentes aqui, como MIF, RPS19 e CALM1, indicando que participam de vias de sinalização compartilhadas entre diversos tipos celulares.

## 6 CONCLUSÃO

- I – O microambiente tumoral tem composição celular semelhante, com exceção de alguns tipos celulares, à medula óssea saudável, porém a proporção da quantidade de células identificadas é divergente.
- II – A quantidade e expressão dos genes se altera à medida em que o microambiente tumoral se desenvolve, sendo que há grande aumento dos genes expressos por Linfócitos Infiltrados no Tumor (*TIM*) e Macrófagos Associados ao Tumor (*TAM*), por exemplo.
- III – Os processos biológicos relacionados aos genes expressos são diferentes na porção benigna e tumoral. No microambiente tumoral, os genes expressos são responsáveis por processos relacionados à síntese e controle dos RNAs mensageiros.
- IV – As principais vias de comunicação celular identificadas estão relacionadas com o processo de imunossupressão, migração celular, angiogênese e estabelecimento de novas metástases.

## REFERÊNCIAS

- AKOUCHEKIAN, M. *et al.* Analysis of mitochondrial ND1 gene in human colorectal cancer. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 16, n. 1, p. 50-55, jan. 2011.
- ALDINUCCI, D.; BORGHESE, C.; CASAGRANDE, N. The CCL5/CCR5 Axis in Cancer Progression. **Cancers (Baseline)**, v. 12, n. 7, ID 1765, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12071765>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/7/1765>. Acesso em: 23 nov. 2023.
- ALDINUCCI, D.; COLOMBATTI, A. The inflammatory chemokine CCL5 and cancer progression. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/292376>. Disponível em: [https://downloads.hindawi.com/journals/mi/2014/292376.pdf?\\_gl=1\\*1htmqnk\\*\\_ga\\*MzYyMzA5Njg2LjE3MDg0NjMyNzM.\\*\\_ga\\_NF5QFMJT5V\\*MTcwODQ2MzI3Mi4xLjAuMTcwODQ2MzMyMi4xMC4wLjA.&\\_ga=2.11976180.1702703847.1708463273-362309686.1708463273](https://downloads.hindawi.com/journals/mi/2014/292376.pdf?_gl=1*1htmqnk*_ga*MzYyMzA5Njg2LjE3MDg0NjMyNzM.*_ga_NF5QFMJT5V*MTcwODQ2MzI3Mi4xLjAuMTcwODQ2MzMyMi4xMC4wLjA.&_ga=2.11976180.1702703847.1708463273-362309686.1708463273). Acesso em: 25 nov. 2023.
- AN, K. *et al.* Computational Studies of the Structural Basis of Human RPS19 Mutations Associated With Diamond-Blackfan Anemia. **Frontiers Genetics**, v. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.650897>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2021.650897/full>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- ANDERSON, N. M.; SIMON, M. C. The tumor microenvironment. **Current Biology**, v. 30, n. 16, p. R921-R925, ago. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.081>. Disponível em: [https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822\(20\)30933-7?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982220309337%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(20)30933-7?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982220309337%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 15 nov. 2023.
- BAGHBAN, R. *et al.* Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance. **Cellular Communication and Signaling**, v. 18, p. 59, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12964-020-0530-4>. Disponível em: <https://biosignaling.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12964-020-0530-4>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- BANCHEREAU, J.; STEINMAN, R. Dendritic cells and the control of immunity. **Nature**, v. 392, p. 245-252, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1038/32588>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/32588>. Acesso em: 13 nov. 2023.
- BECAR, M.; KASI, A. **Physiology, MHC Class I**. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556022/>. Acesso em: 23 out. 2023.
- BHUTIA, S. K. *et al.* Autophagy: cancer's friend or foe? **Advances in Cancer Research**, v. 118, p. 61-95, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407173-5.00003-0>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124071735000030>. Acesso em: 23 nov. 2023.

BILODEAU, K. 7 strategies to prevent câncer. **Harvard Medical School**, 2021. Disponível em: <https://www.health.harvard.edu/cancer/7-strategies-to-prevent-cancer>. Acesso em: 25 nov. 2023.

BIOCARE MEDICAL. **Biocare Basics Oncogenes**. 2022. Disponível em: <https://biocare.net/news/biocare-basics-oncogenes/>. Acesso em: 12 nov. 2023.

BOYCE, B. F.; XING, L. The RANKL/RANK/OPG pathway. **Current Osteoporosis Reports**, v. 5, n. 3, p. 98-104, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11914-007-0024-y>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17925190/>. Acesso em: 22 nov. 2023.

BROSE, M. S. *et al.* Genetic Basis of Cancer Syndromes. **Holland-Frei Cancer Medicine**. 6th edition. Hamilton (ON): BC Decker, 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12959/>. Acesso em: 25 nov. 2023.

BYRNE, N. M.; SUMMERS, M. A.; MCDONALD, M. M. Tumor Cell Dormancy and Reactivation in Bone: Skeletal Biology and Therapeutic Opportunities. **JBMR Plus**, v. 3, n. 3, e10125, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbm4.10125>. Disponível em: <https://asbmr.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm4.10125>. Acesso em: 15 nov. 2023.

CACHO-DÍAZ, B. *et al.* Tumor microenvironment differences between primary tumor and brain metastases. **J Transl Med.**, v. 18, n. 1, p. 1, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12967-019-02189-8>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31900168/>. Acesso em: 25 nov. 2023.

CARMELIET, P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. **Oncology**, v. 69, Suppl 3, p. 4-10, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1159/000088478>. Disponível em: <https://karger.com/ocl/article-abstract/69/Suppl.%203/4/237877/VEGF-as-a-Key-Mediator-of-Angiogenesis-in-Cancer?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 18 nov. 2023.

CASTRO, M. A. *et al.* CFL1 expression levels as a prognostic and drug resistance marker in nonsmall cell lung cancer. **Cancer**, v. 116, n. 15, p. 3645-3655, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1002/cncr.25125>. Disponível em: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.25125>. Acesso em: 15 nov. 2023.

CHATTERJEE, S.; BEHNAM AZAD, B.; NIMMAGADDA, S. The intricate role of CXCR4 in cancer. **Advanced Cancer Research**, v. 124, p. 31-82, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411638-2.00002-1>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124116382000021>. Acesso em: 15 nov. 2023.

CHEN, X. *et al.* Osteoblast-osteoclast interactions. **Connective Tissue Research**, v. 59, n. 2, p. 99-107, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1080/03008207.2017.1290085>. Disponível em:



DESHMANE, S. L. *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 29, n. 6, p. 313-326, jun. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1089/jir.2008.0027>. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jir.2008.0027>. Acesso em: 22 nov. 2023.

DHATCHINAMOORTHY, K.; COLBERT, J. D.; ROCK, K. L. Cancer Immune Evasion Through Loss of MHC Class I Antigen Presentation. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 636568, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.636568>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.636568/full>. Acesso em: 23 nov. 2023.

DOHERTY, L. *et al.* Ribosomal protein genes RPS10 and RPS26 are commonly mutated in Diamond-Blackfan anemia. **American Journal of Human Genetics**, v. 86, n. 2, p. 222-228, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.12.015>. Disponível em: [https://www.cell.com/ajhg/fulltext/S0002-9297\(09\)00609-0](https://www.cell.com/ajhg/fulltext/S0002-9297(09)00609-0). Acesso em: 24 nov. 2023.

DUDEK, A. M. *et al.* Immature, Semi-Mature, and Fully Mature Dendritic Cells: Toward a DC-Cancer Cells Interface That Augments Anticancer Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 4, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00438>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2013.00438/full>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ENG, C. Proto-oncogene in the development of human cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 17, n. 1, p. 380-393, jan. 1999. DOI: <https://doi.org/10.1200/JCO.1999.17.1.380>. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.1999.17.1.380>. Acesso em: 15 nov. 2023.

ESPINOZA, V. E.; EMMADY, P. D. **Histology, Monocytes**. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32491550/>. Acesso em: 28 nov. 2023.

FARR, K. A.; COHEN-FIX, O. The metaphase to anaphase transition: a case of productive destruction. **European Journal of Biochemistry**, v. 263, n. 1, p. 14-19, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00510.x>. Disponível em: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1432-1327.1999.00510.x>. Acesso em: 15 nov. 2023.

FEI, F. *et al.* S100A4 in cancer progression and metastasis: A systematic review. **Oncotarget**, v. 8, n. 42, p. 73219-73239, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18016>. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/article/18016/text/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

FRICKE, I.; GABRILOVICH, D. I. Dendritic cells and tumor microenvironment: a dangerous liaison. **Immunologic Investigations**, v. 35, n. 3-4, p. 459-483, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/08820130600803429>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08820130600803429>. Acesso em: 21 nov. 2023.

GAROFALO, C.; DE MARCO, C.; CRISTIANI, C. M. NK Cells in the Tumor Microenvironment as New Potential Players Mediating Chemotherapy Effects in Metastatic Melanoma. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.754541>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2021.754541/full>. Acesso em: 20 nov. 2023.

GOÏTA, A. A.; GUENOT, D. Colorectal Cancer: The Contribution of CXCL12 and Its Receptors CXCR4 and CXCR7. **Cancers (Basel)**, v. 14, n. 7, p. 1810, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14071810>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/7/1810>. Acesso em: 11 nov. 2023.

GOLDBERG, Y. P.; PARKER, M. I.; GEVERS, W. The genetic basis of cancer. **South African Medical Journal**, v. 80, n. 2, p. 99-104, jul. 1991.

GOLEY, E.; WELCH, M. The ARP2/3 complex: an actin nucleator comes of age. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 7, p. 713-726, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm2026>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrm2026>. Acesso em: 28 nov. 2023.

GOODALL, G. J.; WICKRAMASINGHE, V. O. RNA in cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 21, p. 22-36, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00306-0>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41568-020-00306-0>. Acesso em: 17 nov. 2023.

HAAS, L.; OBENAUF, A. C. Allies or Enemies—The Multifaceted Role of Myeloid Cells in the Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02746>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.02746/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.

HENRY, J. P.; BORDONI, B. **Histology, Osteoblasts**. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557792/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

HOLLING, T. M.; SCHOOTEN, E.; VAN DEN ELSEN, P. J. Function and regulation of MHC class II molecules in T-lymphocytes: of mice and men. **Human Immunology**, v. 65, n. 4, p. 282-290, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2004.01.005>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0198885904000163?via%3Di%3Dhub>. Acesso em: 25 nov. 2023.

HUANG, H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors:Recent Advances. **Sensors (Baseline)**, v. 18, n. 10, p. 3249, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/s18103249>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8220/18/10/3249>. Acesso em: 12 nov. 2023.

HUANG, Y. *et al.* CCL5 might be a prognostic biomarker and associated with immuno-therapeutic efficacy in cancers: A pan-cancer analysis. **Heliyon**, v. 9, n. 7, e18215, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18215>. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405844023054233>. Acesso em: 11 nov. 2023.

HUO, X. *et al.* Identification of the GTPase IMAP family as an immune-related prognostic biomarker in the breast cancer tumor microenvironment. **Gene**, v. 812, p. 146094, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.146094>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378111921006892>. Acesso em: 13 nov. 2023.

INSTITUTO ONCOGUIA. **Estimativas no Brasil**. 2022. Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estimativas-no-brasil/1705/1/>. Acesso em: 10 nov. 2023.

JANKAUSKAS, S. S. *et al.* Evolving complexity of MIF signaling. **Cell Signal**, v. 57, p. 76-88, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.01.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0898656819300154?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov. 2023.

JAYARANGAIAH, A.; KEMP, A. K.; THEETHA KARIYANNA, P. **Bone Metastasis**. 2023. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507911/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

KAPELLOS, T. S. *et al.* Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2035, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02035>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.02035/full>. Acesso em: 16 nov. 2023.

KATAKI, A. *et al.* Tumor infiltrating lymphocytes and macrophages have a potential dual role in lung cancer by supporting both host-defense and tumor progression. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 140, n. 5, p. 320-328, nov. 2002. DOI: <https://doi.org/10.1067/mlc.2002.128317>. Disponível em: [https://www.translationalres.com/article/S0022-2143\(02\)00087-2/abstract](https://www.translationalres.com/article/S0022-2143(02)00087-2/abstract). Acesso em: 17 nov. 2023.

KFOURY, Y. *et al.* Human prostate cancer bone metastases have an actionable immunosuppressive microenvironment. **Cancer Cell**, v. 39, n. 11, p. 1464-1478.e8, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.09.005>. Disponível em: [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(21\)00494-3](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(21)00494-3). Acesso em: 19 nov. 2023.

KIM, S. K.; CHO, S. W. The Evasion Mechanisms of Cancer Immunity and Drug Intervention in the Tumor Microenvironment. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.868695>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2022.868695/full>. Acesso em: 20 nov. 2023.

KIM, Y. H. *et al.* AMPK $\alpha$  modulation in cancer progression: multilayer integrative analysis of the whole transcriptome in Asian gastric cancer. **Cancer Research**, v. 72, n. 10, p. 2512-2521, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3870>.

Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/72/10/2512/575839/AMPK-Modulation-in-Cancer-Progression-Multilayer>. Acesso em: 21 nov. 2023.

KIOUSSIS, D.; ELLMEIER, W. Chromatin and CD4, CD8A and CD8B gene expression during thymic differentiation. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, p. 909-919, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri952>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri952>. Acesso em: 22 nov. 2023.

KREBSBACH, P. H. *et al.* Bone marrow stromal cells: characterization and clinical application. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, v. 10, n. 2, p. 165-181, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1177/10454411990100020401>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/10454411990100020401>. Acesso em: 24 nov. 2023.

KUO, C-Y. *et al.* Aberrant Expression of Thymosin Beta-4 Correlates With Advanced Disease and BRAF V600E Mutation in Thyroid Cancer. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 70, n. 10, p. 707-716, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1369/00221554221138370>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1369/00221554221138370>. Acesso em: 21 nov. 2023.

KWAK, T. *et al.* Distinct Populations of Immune-Suppressive Macrophages Differentiate from Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells in Cancer. **Cell Rep.**, v. 33, n. 13, p. 108571, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108571>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33378668/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

LANGLEY, R. R.; FIDLER, I. J. The seed and soil hypothesis revisited--the role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. **International Journal of Cancer**, v. 128, n. 11, 2011.

LARSEN, S. K.; GAO, Y.; BASSE, P. H. (2014). NK cells in the tumor microenvironment. **Critical Reviews in Oncogenesis**, v. 19, n. 1-2, p. 91-105, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1615/critrevoncoq.2014011142>. Disponível em: <https://www.dl.begellhouse.com/journals/439f422d0783386a,1495e1167ec31aaf,2ecf500d545c83b6.html>. Acesso em: 11 nov. 2023.

LEBIEN, T. W.; TEDDER, T. F. B lymphocytes: how they develop and function. **Blood**, v. 112, n. 5, p. 1570-1580, set. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-078071>. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/112/5/1570/25424/B-lymphocytes-how-they-develop-and-function>. Acesso em: 18 nov. 2023.

LEBLANC-HOTTE, A. *et al.* Immature and mature bone marrow-derived dendritic cells exhibit distinct intracellular mechanical properties. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1967, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28625-w>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-28625-w>. Acesso em: 11 nov. 2023.

LEE, H.; NA, K. J.; CHOI, H. Differences in Tumor Immune Microenvironment in Metastatic Sites of Breast Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 649004, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.649004>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2021.649004/full>. Acesso em: 28 nov. 2023.

LI, T. *et al.* Genome-wide analysis reveals TNFAIP8L2 as an immune checkpoint regulator of inflammation and metabolism. **Molecular Immunology**, v. 99, p. 154-162, 2018.

LI, Y.; LATERRA, J. (2012). Cancer stem cells: distinct entities or dynamically regulated phenotypes? **Cancer Research**, v. 72, n. 3, p. 576-580, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3070>. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/72/3/576/577603/Cancer-Stem-Cells-Distinct-Entities-or-Dynamically>. Acesso em: 10 nov. 2023.

LIBERTI, M. V.; LOCASALE, J. W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? **Trends in Biochemical Sciences**, v. 41, n. 3, p. 211-218, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.12.001>. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/abstract/S0968-0004\(15\)00241-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0968000415002418%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/biochemical-sciences/abstract/S0968-0004(15)00241-8?returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0968000415002418%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 15 nov. 2023.

LIN, Y. *et al.* The NF-kappaB activation pathways, emerging molecular targets for cancer prevention and therapy. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 14, n. 1, p. 45-55, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1517/14728220903431069>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14728220903431069>. Acesso em: 11 nov. 2023.

LIU, T. *et al.* CALM1 promotes progression and dampens chemosensitivity to EGFR inhibitor in esophageal squamous cell carcinoma. **Cancer Cell International**, v. 21, n. 121, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12935-021-01801-6>. Disponível em: <https://cancer-ci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12935-021-01801-6>. Acesso em: 18 nov. 2023.

LIU, T. *et al.* NF-κB signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, n. 17023, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/sigtrans201723>. Acesso em: 19 nov. 2023.

LIU, J. *et al.* Wnt/β-catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 3, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00762-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-021-00762-6>. Acesso em: 22 nov. 2023.

LUO, Y. *et al.* FMO4 shapes immuno-metabolic reconfiguration in hepatocellular carcinoma. **Clinical and Translational Medicine**, v. 12, n. 2, e740, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/ctm2.740>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ctm2.740>. Acesso em: 10 nov. 2023.

MA, Y. *et al.* Dendritic cells in the cancer microenvironment. **Journal of Cancer**, v. 4, n. 1, p. 36-44, 2013. DOI: <https://doi.org/10.7150/jca.5046>. Disponível em: <https://www.jcancer.org/v04p0036.htm>. Acesso em: 10 nov. 2023.

MACEDO, F. *et al.* Bone Metastases: An Overview. **Oncology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 321, maio 2017. DOI: <https://doi.org/10.4081/oncol.2017.321>. Acesso em: 10 nov. 2023.

MANGUM, D. S. *et al.* VPREB1 deletions occur independent of lambda light chain rearrangement in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, v. 28, n. 1, p. 216-220, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/leu.2013.223>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/leu2013223>. Acesso em: 16 nov. 2023.

MAO, M. *et al.* Multifaced roles of PLAC8 in cancer. **Biomarker Research**, v. 9, n. 73, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00329-1>. Disponível em: <https://biomarkerres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40364-021-00329-1>. Acesso em: 26 nov. 2023.

MARSHALL-CLARKE, S.; TASKER, L.; PARKHOUSE, R. M. Immature B lymphocytes from adult bone marrow exhibit a selective defect in induced hyperexpression of major histocompatibility complex class II and fail to show B7.2 induction. **Immunology**, v. 100, n. 2, p. 141-151, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00035.x>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2567.2000.00035.x>. Acesso em: 15 set. 2023.

MAREI, H. E. *et al.* p53 signaling in cancer progression and therapy. **Cancer Cell International**, v. 21, p. 703, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02396-8>. Disponível em: <https://cancerci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12935-021-02396-8>. Acesso em: 30 nov. 2023.

MARTÍNEZ-JIMÉNEZ, F. *et al.* A compendium of mutational cancer driver genes. **Nature Reviews Cancer**, v. 20, p. 555-572, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0290-x>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41568-020-0290-x>. Acesso em: 14 nov. 2023.

MATTAR, R. *et al.* (2003). P53 and Rb tumor suppressor gene alterations in gastric cancer. **Revista Do Hospital Das Clínicas**, v. 59, n. 4, p. 172-180. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0041-87812004000400004>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rhc/a/drGynm9D7CNrL5JgxDnTdmv/#>. Acesso em: 10 nov. 2023.

MATTHEWS, H. K.; BERTOLI, C.; DE BRUIN, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, p. 74-88, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41580-021-00404-3>. Acesso em: 30 nov. 2023.

MELAIU, O. *et al.* Influence of the Tumor Microenvironment on NK Cell Function in Solid Tumors. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. 3038, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03038>. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.03038/full>. Acesso em: 11 nov. 2023.

MELESE, E. S. *et al.* CCL5 production in lung cancer cells leads to an altered immune microenvironment and promotes tumor development. **Oncolimmunology**, v. 11, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2021.2010905>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2021.2010905>. Acesso em: 25 nov. 2023.

MICHELAKOS T. *et al.* Differential role of HLA-A and HLA-B, C expression levels as prognostic markers in colon and rectal cancer. **Journal of Immunotherapy and Cancer**, v. 10, n. 3, e004115, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-004115>. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/10/3/e004115>. Acesso em: 15 nov. 2023.

MIRRAKHIMOV, A. E. Hypercalcemia of Malignancy: An Update on Pathogenesis and Management. **North American Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 11, p. 483-493, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4103/1947-2714.170600>. Disponível em: <https://www.medknow.com/text.asp>. Acesso em: 14 nov. 2023.

MIYAHARA, Y. *et al.* Prosaposin, tumor-secreted protein, promotes pancreatic cancer progression by decreasing tumor-infiltrating lymphocytes. **Cancer Science**, v. 113, n. 8, p. 2548-2559, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/cas.15444>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cas.15444>. Acesso em: 18 nov. 2023.

MUZ, B. *et al.* The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. **Hypoxia** (Auckland), v. 3, p. 83-92, dez. 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/HP.S93413>. Disponível em: <https://www.dovepress.com/the-role-of-hypoxia-in-cancer-progression-angiogenesis-metastasis-and--peer-reviewed-fulltext-article-HP>. Acesso em: 19 nov. 2023.

NAIR, S.; DHODAPKAR, M. V. Natural Killer T Cells in Cancer Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 8, n. 1178, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01178>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2017.01178/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.

NARASIMHAN, P. B. *et al.* Nonclassical Monocytes in Health and Disease. **Annual Review of Immunology**, v. 37, p. 439-456, abr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053119>. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-042617-053119>. Acesso em: 17 nov. 2023.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Staging**. 2022. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/staging>. Acesso em: 22 nov. 2023.

NAYAK, A.; WARRIER, N. M.; KUMAR, P. Cancer Stem Cells and the Tumor Microenvironment: Targeting the Critical Crosstalk through Nanocarrier Systems. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 18, n. 7, p. 2209-2233, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10426-9>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12015-022-10426-9>. Acesso em: 22 nov. 2023.

NISHIDA, N. *et al.* Angiogenesis in cancer. **Vascular Health and Risk Management**, v. 2, n. 3, p. 213-219, 2006. DOI: <https://doi.org/10.2147/vhrm.2006.2.3.213>. Disponível em: <https://www.atypon.com/>. Acesso em: 13 nov. 2023.

O'CONNOR, C. Cell Division: Stages of Mitosis. **Nature Education**, v. 1, n. 1, p. 188, 2008.

OLIVIER, M.; HOLLSTEIN, M.; HAINAUT, P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. **Cold Spring Harb Perspect Biol.**, v. 2, n. 1, a001008, jan. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001008>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20182602/>. Acesso em: 15 nov. 2023

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Câncer**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>. Acesso em: 15 nov. 2023.

PAN, Y. *et al.* Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 583084, dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.583084>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2020.583084/full>. Acesso em: 21 nov. 2023.

PEI, S. *et al.* Cancer-associated fibroblasts express CD1d and activate invariant natural killer T cells under cellular stress. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 21, p. 91-94, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41423-023-01082-1>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41423-023-01082-1>. Acesso em: 19 nov. 2023.

PIETRZAK, J. *et al.* Correlation of TIMP1-MMP2/MMP9 Gene Expression Axis Changes with Treatment Efficacy and Survival of NSCLC Patients. **Biomedicines**, v. 11, n. 7, p. 1777, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071777>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9059/11/7/1777>. Acesso em: 15 nov. 2023.

PISHESHA, N.; HARMAND, T. J.; PLOEGH, H. L. A guide to antigen processing and presentation. **Nature Reviews Immunology**, v. 22, p. 751-764, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00707-2>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41577-022-00707-2>. Acesso em: 10 nov. 2023.

PU, D. *et al.* A novel ten-gene prognostic signature for cervical cancer based on CD79B-related immunomodulators. **Frontiers in Genetics**, v. 13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.933798>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2022.933798/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.

PUCKETT, Y.; CHAN, O. Acute Lymphocytic Leukemia. **StatPearls Publishing**, 2023 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459149/>. Acesso em: 30 nov. 2023.

QIN, Y. *et al.* GIMAP7 as a Potential Predictive Marker for Pan-Cancer Prognosis and Immunotherapy Efficacy. **Journal of Inflammation Research**, v. 15, p. 1047-1061, 2022. DOI: <https://doi.org/10.2147/JIR.S342503>. Disponível em: <https://www.dovepress.com/gimap7-as-a-potential-predictive-marker-for-pan-cancer-prognosis-and-i-peer-reviewed-fulltext-article-JIR>. Acesso em: 10 nov. 2023.

QIU, X. *et al.* Identification of HMGB2 associated with proliferation, invasion and prognosis in lung adenocarcinoma via weighted gene co-expression network analysis. **BMC Pulmonary Medicine**, v. 22, n. 310, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12890-022-02110-y>. Disponível em: <https://bmcpulmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12890-022-02110-y>. Acesso em: 10 nov. 2023.

RAMOS, R. N. *et al.* Editorial: Tumor microenvironment (TME) and tumor immune microenvironment (TIME): New perspectives for prognosis and therapy. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 971275, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.971275>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2022.971275/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.

RODIG, S. J. *et al.* The pre-B-cell receptor-associated protein VpreB3 is a useful diagnostic marker for identifying c-MYC translocated lymphomas. **Haematologica**, v. 95, n. 12, p. 2056-2062, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.025767>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2995563/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

ROSEN, R. D.; SAPRA, A. **TNM Classification**. 2023. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553187/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

ROY, S. K. *et al.* SATB2 is a novel biomarker and therapeutic target for cancer. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 24, n. 19, p. 11064-11069, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.15755>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jcmm.15755>. Acesso em: 19 nov. 2023.

RUFFELL, B. *et al.* Lymphocytes in cancer development: polarization towards pro-tumor immunity. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 21, n. 1, p. 3-10, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2009.11.002>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359610109001099>. Acesso em: 16 nov. 2023.

RYAN, C. *et al.* Epidemiology of bone metastases. **Bone**, v. 158, p. 115783, maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115783>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S8756328220305718>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SCHIAVONI, G.; GABRIELE, L.; MATTEI, F. The dual role of IRF8 in cancer immunosurveillance. **Oncoimmunology**, v. 2, n. 8, e25476, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4161/onci.25476>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/onci.25476>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SCHONTHALER, H. B.; GUINEA-VINIEGRA, J.; WAGNER, E. F. Targeting inflammation by modulating the Jun/AP-1 pathway. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 70, Suppl 1, p. i109-i112, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1136/ard.2010.140533>. Disponível em: [https://ard.bmj.com/content/70/Suppl\\_1/i109](https://ard.bmj.com/content/70/Suppl_1/i109). Acesso em: 10 nov. 2023.

SCHOTT, K. *et al.* SAMHD1 in cancer: curse or cure? **Journal of Molecular Medicine**, Berlin, v. 100, n. 3, p. 351-372, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02131-w>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00109-021-02131-w>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SHI, Y.; RIESE, D. J.; SHEN, J. The Role of the CXCL12/CXCR4/CXCR7 Chemokine Axis in Cancer. **Frontiers Pharmacology**, v. 11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.574667>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2020.574667/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SILVEIRA, V. S. **Bases genéticas do Câncer**. 2018. Disponível em: <https://slideplayer.com.br/slide/11909490/>. Acesso em: 23 nov. 2023.

SINGH, S. K. *et al.* CCR5/CCL5 axis interaction promotes migratory and invasiveness of pancreatic cancer cells. **Science Reports**, v. 8, n. 1323, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19643-0>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-19643-0>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SKARP, S. *et al.* Exome Sequencing Reveals a Phenotype Modifying Variant in ZNF528 in Primary Osteoporosis With a COL1A2 Deletion. **J Bone Miner Res**, v. 35, n. 12, p. 2381-2392, dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4145>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32722848/>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SOUSA, E. **Câncer uma doença genética**. 2021. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/102032239/cancer-uma-doenca-genetica>. Acesso em: 11 nov. 2023.

SOUZA, V. B.; SCHENKA, A. A. Cancer Stem and Progenitor-Like Cells as Pharmacological Targets in Breast Cancer Treatment. **Breast Cancer**, Auckland, v. 9, Suppl 2, p. 45-55, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4137/BCBCR.S29427>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.4137/BCBCR.S29427>. Acesso em: 10 nov. 2023.

STARZER, A. M., BERGHOFF, A. S. New emerging targets in cancer immunotherapy: CD27 (TNFRSF7). **ESMO Open**, v. 4, Suppl 3, e000629, mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2019-000629>. Disponível em: [https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029\(20\)30107-1/fulltext](https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029(20)30107-1/fulltext). Acesso em: 10 nov. 2023.

STIRLING, E.R. *et al.* Metabolic Implications of Immune Checkpoint Proteins in Cancer. **Cells**, v. 11, n. 1, p. 179, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11010179>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4409/11/1/179>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SUN, Y. *et al.* High expression of fibronectin 1 indicates poor prognosis in gastric cancer. **Oncology Letters**, v. 19, n. 1, p. 93-102, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2019.11088>. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2019.11088>. Acesso em: 20 nov. 2023.

SURESH, R.; DIAZ, R. J. The remodelling of actin composition as a hallmark of cancer. **Translational Oncology**, v. 14, n. 6, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101051>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1936523321000437?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov. 2023.

TANG, H. *et al.* Upregulation of SPP1 Is a Marker for Poor Lung Cancer Prognosis and Contributes to Cancer Progression and Cisplatin Resistance. **Frontiers Cell Development Biology**, v. 9, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.646390>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.646390/full>. Acesso em: 20 nov. 2023.

TODA MATÉRIA: conteúdos escolares. **Medula óssea**. 2023. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/medula-ossea/>. Acesso em: 25 nov. 2023.

TRAPANI, J. A. Granzymes: a family of lymphocyte granule serine proteases. **Genome Biology**, v. 2, n. 12, nov. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1186/gb-2001-2-12-reviews3014>. Disponível em: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2001-2-12-reviews3014>. Acesso em: 11 nov. 2023.

TZAVLAKI, K.; MOUSTAKAS, A. TGF- $\beta$  Signaling. **Biomolecules**, v. 10, n. 3, p. 487, mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom10030487>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/3/487>. Acesso em: 18 nov. 2023.

VAN ZIJL, F.; KRUPITZA, G.; MIKULITS, W. Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration. **Mutation Research**, v. 728, n. 1-2, p. 23-34, jul./out. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.05.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574211000263?via%3Dihub>. Acesso em: 19 nov. 2023.

VISCO, C. *et al.* Oncogenic Mutations of MYD88 and CD79B in Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Implications for Clinical Practice. **Cancers**, Basel, v. 12, n. 10, p. 2913, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12102913>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/10/2913>. Acesso em: 13 nov. 2023.

VISHNOI, K. *et al.* Transcription Factors in Cancer Development and Therapy. **Cancers**, Basel, v. 12, n. 8, p. 2296, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers12082296>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/8/2296>. Acesso em: 14 nov. 2023.

VIVIER, E. *et al.* Functions of natural killer cells. **Nature Immunology**, v. 9, n. 5, p. 503-10, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni1582>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ni1582>. Acesso em: 10 nov. 2023.

VOGELSTEIN, B.; SUR, S.; PRIVES, C. p53: The Most Frequently Altered Gene in Human Cancers. **Nature Education**, v. 3, n. 9, p. 6, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/283363915\\_P53\\_The\\_most\\_frequently\\_altered\\_gene\\_in\\_human\\_cancers](https://www.researchgate.net/publication/283363915_P53_The_most_frequently_altered_gene_in_human_cancers). Acesso em: 10 nov. 2023.

VOSKOBOINIK, I.; WHISSTOCK, J. C.; TRAPANI, J. A. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. **Nature Reviews Immunology**, v. 15, n. 6, p. 388-400, jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3839>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri3839>. Acesso em: 16 nov. 2023.

WANG, H. *et al.* Granzyme M expressed by tumor cells promotes chemoresistance and EMT in vitro and metastasis in vivo associated with STAT3 activation. **Oncotarget**, v. 6, n. 8, p. 5818-5831, mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3461>. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/article/3461/text/>. Acesso em: 10 nov. 2023.

WANG, L. H. *et al.* Loss of Tumor Suppressor Gene Function in Human Cancer: An Overview. **Cell Physiology and Biochemistry**, v. 51, n. 6, p. 2647-2693, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1159/000495956>. Disponível em: <https://karger.com/cpb/article/51/6/2647/76530/Loss-of-Tumor-Suppressor-Gene-Function-in-Human>. Acesso em: 10 nov. 2023.

WANG, Y. *et al.* B Cell Development and Maturation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1254, p. 1-22, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-981-15-3532-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3532-1_1). Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-3532-1\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-3532-1_1). Acesso em: 12 nov. 2023.

WIEGHAUS, K. A. *et al.* Phthalimide neovascular factor 1 (PNF1) modulates MT1-MMP activity in human microvascular endothelial cells. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 103, n. 4, p. 796-807, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/bit.22310>. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.22310>. Acesso em: 10 nov. 2023.

WU, H. *et al.* B cell deficiency promotes the initiation and progression of lung cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1006477>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2022.1006477/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.

WU, L.; VAN KAER, L. Natural killer T cells in health and disease. **Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)**, v. 3, n. 1, p. 236-51, 2011. DOI: <https://doi.org/10.2741/s148>. Disponível em: <https://www.imrpess.com/journal/FBS/3/1/10.2741/S148>. Acesso em: 19 nov. 2023.

XIE, X. *et al.* MYL6B, a myosin light chain, promotes MDM2-mediated p53 degradation and drives HCC development. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 37, n. 28, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0693-7>. Disponível em: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-018-0693-7>. Acesso em: 10 nov. 2023.

- XU, C. *et al.* CXCR4 in breast cancer: oncogenic role and therapeutic targeting. **Drug Design Development Therapies**, v. 9, p. 4953-64, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S84932>. Disponível em: <https://www.dovepress.com/cxcr4-in-breast-cancer-oncogenic-role-and-therapeutic-targeting-peer-reviewed-fulltext-article-DDDT>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- YANG, J. *et al.* Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. **Biomarker Research**, v. 2, n. 1, p. 1, jan. 2014.
- YANG, R. *et al.* Fc Fragment of IgE Receptor Ig (FCER1G) acts as a key gene involved in cancer immune infiltration and tumour microenvironment. **Immunology**, v. 168, n. 2, p. 302-319, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/imm.13557>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/imm.13557>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- YANG, Z. *et al.* CHL1 Is Expressed and Functions as a Malignancy Promoter in Glioma Cells. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 10, n. 324, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00324>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2017.00324/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- YAO, X.; ZENG, Y. Tumour-associated endothelial cells: origin, characteristics and role in metastasis and anti-angiogenic resistance. **Frontiers in Physiology**, v. 14, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1199225>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/physiology/articles/10.3389/fphys.2023.1199225/full>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- YE, D. Z.; FIELD, J. PAK signaling in cancer. **Cellular Logistics**, v. 2, n. 2, p. 105-116, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4161/cl.21882>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/cl.21882>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- YE, Y. *et al.* Plasmacytoid dendritic cell biology and its role in immune-mediated diseases. **Clinical and Translational Immunology**, v. 9, n. 5, e1139, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/cti2.1139>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cti2.1139>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- ZENOBIA, C.; HAJISHENGALLIS, G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. **Periodontol 2000**, v. 69, n. 1, p. 142-59, out. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/prd.12083>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26252407/>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- ZHANG, J. *et al.* Super Enhancer Regulatory Gene FYB1 Promotes the Progression of T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia by Activating IGLL1. **Journal of Immunology Research**, v. 2023, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/3804605>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jir/2023/3804605/>. Acesso em: 10 nov. 2023.
- ZHAO, H. *et al.* The role of osteopontin in the progression of solid organ tumor. **Cell Death Discovery**, v. 9, n. 356, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0391->

6. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41419-018-0391-6>. Acesso em: 10 nov. 2023.

ZHAO, J. *et al.* Current insights into the expression and functions of tumor-derived immunoglobulins. **Cell Death Discovery**, v. 7, n. 148, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00550-9>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41420-021-00550-9>. Acesso em: 10 nov. 2023.

ZHOU, B.; LAWRENCE, T.; LIANG, Y. The Role of Plasmacytoid Dendritic Cells in Cancers. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.749190>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.749190/full>. Acesso em: 11 nov. 2023.

ZHOU, Z. *et al.* VCAM-1 secreted from cancer-associated fibroblasts enhances the growth and invasion of lung cancer cells through AKT and MAPK signaling. **Cancer Letters**, v. 473, p. 62-73, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.12.039>. Disponível em: <https://karger.com/cpb/article/51/6/2647/76530/Loss-of-Tumor-Suppressor-Gene-Function-in-Human>. Acesso em: 10 nov. 2023.